VISIT…

CHEMISTRY OF THE AMINO ACIDS

JESSE P GREENSTEIN
and
MILTON WINITZ

NEW YORK LONDON
JOHN WILEY & SONS, INC
1961

Дж. Гринштейн. М. Винитц

ХИМИЯ АМИНОКИСЛОТ И ПЕПТИДОВ

Перевод с английского
канд хим наук В К АНТОНОВА
канд хим наук Э М БАМДАС
канд хим наук Ю А ОВЧИННИКОВА

Под редакцией
академика М М ШЕМЯКИНА

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»
1963

УДК 577.1:547.96

Исследования по химии аминокислот и пептидов приобретают в последние годы все большее значение в связи с тем, что достижения этой области биоорганической химии уже сейчас широко используются при решении важных проблем медицины и сельского хозяйства, а также вопросов создания синтетической пищи и т. п.

В книгу включены избранные главы из уникальной трехтомной монографии, получившей всемирное признание. Вошедшие в книгу главы являются наиболее важными и неразрывно связанными между собой. Книга дополнена новыми материалами с учетом работ, появившихся в печати в последние два года.

Книга представляет собой не только теоретическое, но и практическое, настольное руководство по химии аминокислот и пептидов. Она предназначена для биохимиков, биологов, биофизиков и медиков, а также для химиков-органиков, работающих в области природных соединений.

Редакция литературы по химии

ПРЕДИСЛОВИЕ

Предлагаемая вниманию читателей книга «Химия аминокислот и пептидов» представляет собой перевод избранных глав трехтомной монографии Дж. Гринштейна и М. Винца «Химия аминокислот», вышедшей в английском издании в 1961 г. При выборе разделов, вошедших в русское издание монографии, мы руководствовались прежде всего практическими интересами химиков, работающих в области синтеза пептидов. Эта область биоорганической химии развивается в настоящее время исключительно бурными темпами. Достаточно вспомнить, что не прошло и 10 лет со времени синтеза первого, более или менее сложного природного пептида — антибиотика грамицидина С. С тех пор синтезированы очень многие пептидные гормоны, причем в ряде стран налажено их промышленное получение синтетическим путем. Синтезирован ряд антибиотиков пептидов и депсипептидов, а недавно был завершен полный синтез сложного пептида — аденокортикотропного гормона (АКТГ), содержащего 39 остатков аминокислот. Наконец, около года назад был осуществлен первый синтез белка — гормона инсулина (51 аминокислотный остаток), а сейчас успешно ведется синтез фермента — рибонуклеазы, содержащей 124 остатка аминокислот. Надо, правда, отметить, что при современных методах пептидного синтеза получение таких соединений становится очень трудоемким, все более осложняясь по мере увеличения белковых молекул, и, вероятно, химия пептидов уже в ближайшее время столкнется с необходимостью коренного изменения методов синтеза.

В настоящее время методы построения пептидов, как известно, сводятся к синтезу или получению из природных источников исходных аминокислот нужной пространственной конфигурации, защите функциональных групп, не участвующих в образовании амидной связи, созданию последней, удалению защитных группировок и, наконец, подтверждению структурной и стереохимической индивидуальности пептида. В согласии с этой схемой и построена данная монография. Мы сочли необходимым включить также главу о стереохимии аминокислот, поскольку в литературе на русском языке этот вопрос освещен довольно слабо.

Главным достоинством настоящей книги является обилие фактического материала, часто сведенного в таблицы, и наличие типовых методик. Все это позволяет использовать книгу как практическое руководство по различным разделам химии аминокислот и пептидов. Однако в силу того, что в русском издании даны лишь отдельные главы монографии, становится более ощутимым один из недостатков книги — обилие частностей, а также

«старомодный» стиль изложения материала, что было очень трудно устранить в переводе.

Перевод гл. 1, 3, 4 и 6 выполнен канд. хим. наук В. К. Антоновым, гл. 2 и часть гл. 5 переведена канд. хим. наук Э. М. Бамдас, а остальная часть гл. 5 — канд. хим. наук Ю. А. Овчинниковым. Кроме того Антоновым и Овчинниковым составлены дополнения к гл. 5, отражающие те изменения, которые произошли в области синтеза пептидов со времени выхода английского издания монографии. Эти дополнения не претендуют на полноту охвата литературы, а имеют цель дать основные сведения, а также типовые методики тех синтетических методов, которые за последнее время получили наиболее широкое распространение в химии пептидов.

Мы надеемся, что предлагаемая книга окажется полезной для большого круга исследователей, работающих в области химии аминокислот, пептидов и белков.

М. Шемякин

ГЛАВА 1

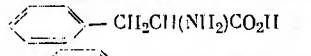
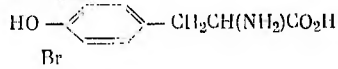
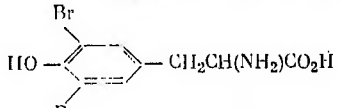
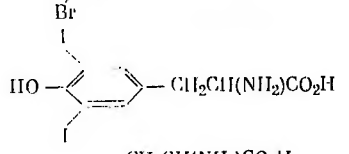
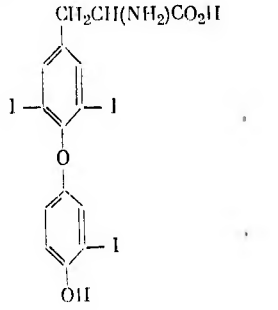
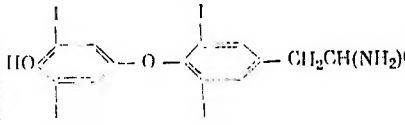
НОМЕНКЛАТУРА, СТРОЕНИЕ И НАХОЖДЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ПРИРОДЕ

1. Строение и классификация аминокислот белкового происхождения. В соответствии со строгим определением, к аминокислотам можно отнести любую органическую кислоту, содержащую одну или несколько аминогрупп. Такое определение по самой своей природе должно включать вещества весьма различной структуры, например, β-аланин ($NH_2CH_2CH_2CO_2H$), таурин ($NH_2CH_2CH_2SO_3H$), карбаминовую кислоту (NH_2CO_2H), глицин ($NH_2CH_2CO_2H$) и аминомалоновую кислоту [$NH_2CH(CO_2H)_2$], а также, по-видимому, бесконечное множество сходных соединений разной величины и строения, имеющих различного рода функциональные группы. Из большого числа возможных соединений этого типа с целью более подробного изучения часто выделяют сравнительно небольшую группу α-аминокислот — составных частей белков — и, кроме того, несколько большее число аналогичных синтетических и природных соединений. За немногими исключениями, все они имеют общее строение NH_2CHRCO_2H, причем аминогруппа связана с атомом углерода, находящемся в α-положении к карбоксильной группе, а боковая цепь R может иметь различные состав и строение.

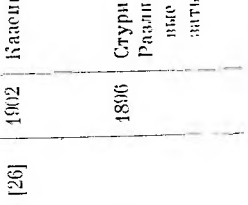
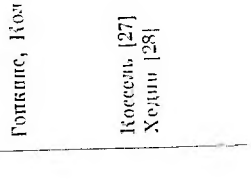
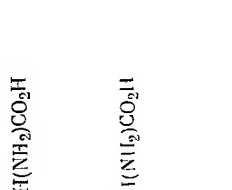
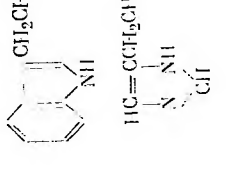
К моменту написания этой книги было установлено, что в белках тканей млекопитающих встречается около 25 различных аминокислот. Все они в общем обладают первичной аминогруппой, карбоксилом и атомом водорода, связанным с α-углеродным атомом. Иминокислоты — пролин и оксипролин — можно рассматривать как α-аминокислоты, аминогруппы которых включены в систему пирролидинового кольца. В табл. 1 приведены аминокислоты, которые были выделены из белковых гидролизатов и большей частью настолько хорошо исследованы, что их присутствие в исходном белке не вызывает сомнений [1—28]. Большинство этих аминокислот широко распространено в различного рода белках. Однако некоторые аминокислоты, например, тироксин, трийодтиронин, дийодтирозин, дибромтирозин, оксилизин и оксипролин, распространены в меньшей степени.

Следует особо отметить аминокислоту цистеин $HSCH_2CH(NH_2)CO_2H$, которая легко превращается при мягком окислении в цистин. В силу этой заметной склонности к окислению гидролиз белка, в нативной форме которого присутствует цистеин, в обычных условиях приводит к выделению цистина вместо восстановленной формы аминокислоты. Тем не менее в действительности не возникает сомнений в реальном присутствии цистеина во многих белках, не подвергавшихся обработке. Это доказывается, например, наличием красного окрашивания, появляющегося при действии нитропруссида натрия — реагента на сульфгидрильную группу — на белки как в нативной, так и в денатурированной формах, а также на продукты их гидролиза.

Природные α-аминокислоты, найденные в белках

Класс	Аминокислота	Формула	Впервые выделена из белковых гидролизатов	Год	Белок
I. Алифатические аминокислоты А. Моноаминокарбоновые кислоты	1. Глицин	$CH_2(NH_2)CO_2H$	Браконно [1]	1820	Желатин
	2. Аланин	$CH_3CH(NH_2)CO_2H$	Вейль [2]	1888	Фиброин шелка
			Шютценбергер [3]	1879	
	3. Валин	$(CH_3)_2CHCH(NH_2)CO_2H$	Фишер [4]	1901	Казеин
	4. Лейцин	$(CH_3)_2CHCH_2CH(NH_2)CO_2H$	Браконно [1]	1820	Мышечные волокна, шерсть
	5. Изолейцин	$CH_3CH_2CH(CH_3)CH(NH_2)CO_2H$	Эрлих [5]	1904	Фибрин
	6. Серин	$CH_2(OH)CH(NH_2)CO_2H$	Крамер [6]	1865	Серицин
	7. Треонин	$CH_3CH(OH)CH(NH_2)CO_2H$	Шрайвер, Бастон [7]	1925	Белок овса
			Гортнер, Гофман [8]		Теозеин
Б. Диаминомонокарбоновые кислоты	8. Лизин	$CH_2(NH_2)CH_2CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Дрексель [9]	1889	Казеин
	9. δ-Оксилизин	$CH_2(NH_2)CH(OH)CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Шрайвер, Бастон и Мукхерджи [10]	1925	Рыбий желатин
	10. Аргинин	$H_2NC(=NH)NHCH_2CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Хедин [11]	1895	Рог
В. Монодикарбоновые кислоты и их амиды	11. Аспарагиновая кислота	$CH(NH_2)CO_2H$ | CH_2CO_2H	Риттхаузен [12]	1868	Конглутин, легумин
	12. Аспарагин	$CH(NH_2)CO_2H$ | CH_2CONH_2	Дамодаран [13]	1932	Эдестин
	13. Глутаминовая кислота	$CH(NH_2)CO_2H$ | $CH_2CH_2CO_2H$	Риттхаузен [14]	1866	Глутенфибрин
	14. Глутамин	$CH(NH_2)CO_2H$ | $CH_2CH_2CONH_2$	Дамодаран, Джабэк и Чибнал [15]	1932	Глиадин
Г. Серусодержащие аминокислоты	15. Цистин	$SCH_2CH(NH_2)CO_2H$ | $SCH_2CH(NH_2CO_2H$	Мёрпер [16]	1899	Рог
	16. Метионин	$CH_3SCH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Мюллер [17]	1922	Казеин
II. Ароматические аминокислоты	17. Фенилаланин		Шульце, Барбьери [18]	1881	Ростки люпина
	18. Тирозин		Бопп [19]	1849	Казеин
	19. 3,5-Дибромтирозин		Мёрпер [20]	1913	Скелет коралла
	20. 3,5-Дииодтирозин		Дрексель [21]	1896	Скелет коралла
	21. Триподтиронин (3,5,3′)		Гросс, Питт-Риверс [22]	1953	Ткань щитовидной железы
	22. Тироксин		Кендал [23]	1915	То же

Продолжение табл. 1

Класс	Аминокислота	Формула	Впервые выделена из белковых гидролизатов	Год	Белок
III. Гетероциклические аминокислоты	23. Пролин		Фишер [24]	1901	Казеин
	24. Оксипролин		Фишер [25]	1902	Желатин
	25. Триптофан		Гопкинс, Кол [26]	1902	Казеин
	26. Гистидин		Коссель [27] Хедин [28]	1896	Стурин Различные белковые гидролизаты

Аминокислоты, перечисленные в табл. 1, разбиты по категориям в соответствии с некоторыми основными структурными различиями, такими, как наличие алифатической, ароматической или гетероциклической боковой цепи. Алифатические аминокислоты подразделяются далее по числу содержащихся в них амино- и карбоксильных заместителей. Следует отметить, что использовались также методы классификации, основанные на кислотном, основном или нейтральном характере той или иной аминокислоты, либо на ее полярном или неполярном характере.

Некоторые аминокислоты, помимо приведенных в табл. 1, привлекли внимание исследователей как возможные составные части белков. Среди них особенно следует отметить норлейцин, β-оксиглутаминовую кислоту, орнитин и цитруллин. В этом отношении первые две аминокислоты, существование которых в природе еще окончательно не выяснено, явились в прошлом предметом многочисленных споров. Историческая обстановка дискуссии более полно рассматривается ниже. С другой стороны, показано, что две другие аминокислоты широко распространены в природе. Однако они распространены почти исключительно или в свободном состоянии, или в виде химических соединений с веществами небелкового характера. Периодически появляющиеся в литературе сообщения о нахождении этих аминокислот в белках позднее опровергаются биохимиками. Так, в 1933 г. Вада [29] сообщил о выделении цитруллина из продуктов расщепления казеина трипсином. Это открытие, однако, трудно согласовать с позднейшими работами большого числа исследователей, которые, пользуясь более современной хроматографической техникой, не только не смогли обнаружить цитруллин в кислотных, щелочных или ферментных гидролизатах казеина, но им даже не удалось установить присутствие в них орнитина, который мог бы возникнуть при последующем расщеплении цитруллина. Недавно Смит и Юнг [30] сообщили о нахождении цитруллина и орнитина в белковых гидролизатах некоторых видов морских водорослей. Первая аминокислота идентифицирована хроматографически, выделена и затем охарактеризована рентгенограммой. Второе соединение не удалось выделить, и оно было идентифицировано только с помощью хроматографического и ионообменного методов. Однако сообщение о присутствии цитруллина в гидролизате вызывает сомнение ввиду того, что белок подвергался гидролизу сильной кислотой в течение 24 *час*. Во всяком случае, из-за отсутствия дальнейших сведений вопрос о существовании орнитина и цитруллина в белках остается пока лишь предметом обсуждения.

2. Оптические свойства. За исключением глицина и аминомалоновой кислоты, все α-аминокислоты типа $RCH(NH_2)COOH$ могут быть получены в виде по крайней мере двух различных изомерных форм. Эти формы, имеющие одну и ту же брутто-формулу и обладающие одинаковыми группировками атомов в молекуле, не отличимы одна от другой по всем своим химическим и физическим свойствам, за исключением одного — влияния на плоско поляризованный свет. Это можно пояснить на примере двух форм аланина, одна из которых обладает способностью вращать плоскость поляризованного света влево, тогда как другая вращает ее вправо. Такие формы называют соответственно *левовращающей* и *правовращающей*. Хотя *оптическая вращательная способность*, проявляемая этими двумя изомерами, различна по направлению, она имеет тем не менее одну и ту же величину.

Способность молекулы аланина существовать в вышеупомянутых *стереоизомерных* формах можно приписать тому факту, что α-атом углерода этого соединения соединен с четырьмя *различными* группами, которые

могут по-разному располагаться в *трехмерном* пространстве. Соединения этого типа в общем называют *асимметрическими*, потому что с чисто геометрической точки зрения они не обладают полной симметрией. Изучение такой молекулярной асимметрии исходит из представлений, высказанных в 1874 г. независимо друг от друга Ле Белем и Вант-Гоффом, о том, что четыре ковалентные связи атома углерода направлены от него радиально в трех измерениях. Согласно их представлениям, эти валентные связи расположены таким образом, что прямые, соединяющие их концы, образуют правильный тетраэдр. Эта гипотеза впоследствии была подтверждена огромным количеством накопленных экспериментальных данных.

Вследствие асимметрии молекулы аланина можно представить два тетраэдрических расположения групп атомов таким образом, что эти структуры будут относиться друг к другу так же, как предмет относится к своему

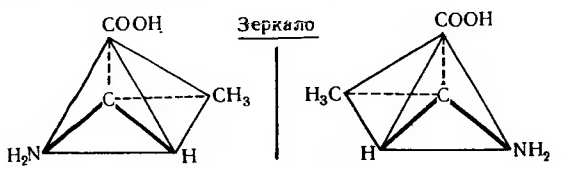
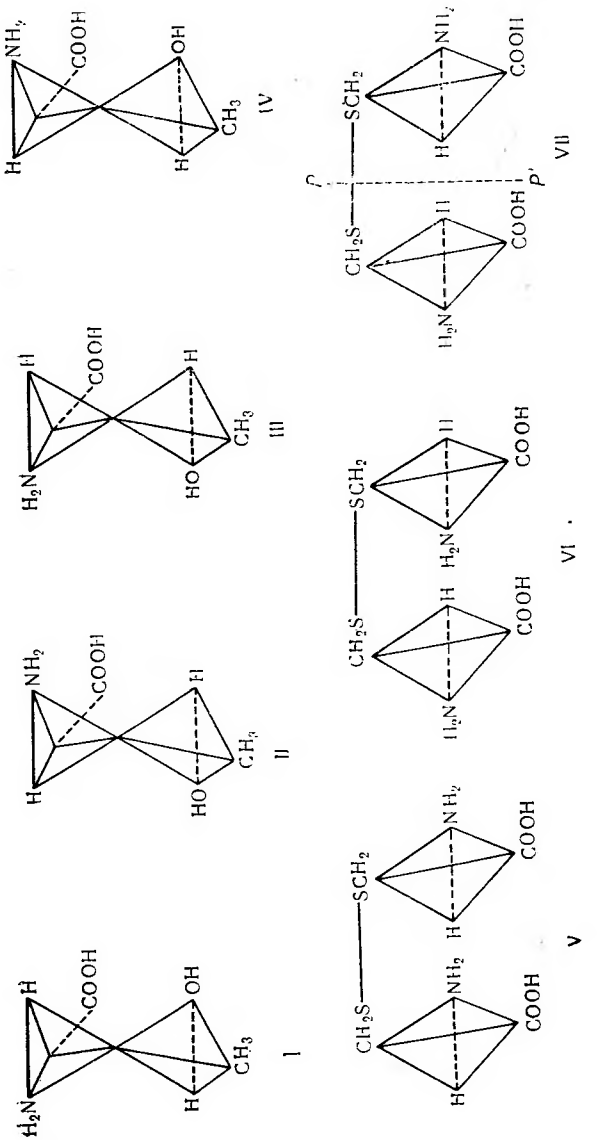


Рис. 1. Трехмерные проекции оптических антиподов аланина.

зеркальному отражению или как правая рука относится к левой (рис. 1). Такие молекулы, а также молекулы, являющиеся несовмещающимися с ними зеркальными отражениями, часто называют *энантиоморфными формами*, *энантиомерами*, или *оптическими антиподами*. Они обладают оптической активностью. Однако если смешать равные количества *право-* и *левовращающего* энантиомеров, оптический эффект одного изомера нейтрализуется эффектом другого, и в результате получается неактивный продукт, известный под названием *рацемической модификации*, или *рацемата*.

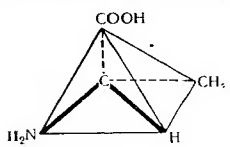
Помимо α-центра асимметрии, некоторые аминокислоты, например, треонин, фенилсерин и изолейцин, могут обладать вторым центром асимметрии и потому способны существовать в четырех *стереоизомерных* формах. Эти формы для треонина изображены на стр. 13, где I и II представляют оптические антиподы треонина, а III и IV — оптические антиподы *алло*-треонина. Молекула треонина I является оптическим антиподом молекулы II: эквимолярная смесь I и II представляет собой рацемическую модификацию. Аналогичные стереохимические отношения существуют между антиподами *алло*-треонина III и IV. Однако отношения между любым из антиподов треонина — I или II — с одним или другим антиподом *алло*-треонина — III или IV — совершенно иные, в чем легко убедиться при тщательном сопоставлении этих моделей. Ни одна из первых двух молекул не идентична двум последним и ни одна не является их зеркальным изображением. Стереоизомерные молекулы, находящиеся в таком отношении друг к другу, называются *диастереомерами*, или *эпимерами*. В противоположность оптическим антиподам диастереомеры отличаются по таким физическим свойствам, как величина оптического вращения, растворимость, инфракрасные спектры и температуры плавления; в то же время их химические реакции, хотя в общем и одинаковые, могут часто протекать с заметно различающимися скоростями. Существование диастереомеров не ограничивается только упомянутым типом α, β-диасимметричных молекул, но наблюдается также среди аминокислот, в которых два асимметрических центра не находятся



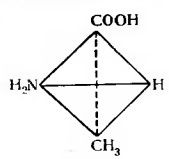
рядом, например, в δ-оксилизине, γ-оксипролине, октопине и подобных им соединениях.

Цистин и α, ε-диаминопимелиновая кислота являются представителями особого типа диасимметричных аминокислот, которые существуют в виде только трех различных стереоизомерных форм. Для первой аминокислоты это проиллюстрировано на стр. 13, где V и VI изображают соответственно лево- и правовращающий цистин, а VII — оптически неактивный *мезо*-цистин. Последнее соединение оптически неактивно в силу того, что плоскость симметрии PP', проходящая через центр молекулы, теоретически делит молекулу на две половины, из которых каждая является зеркальным отражением другой. Хотя каждая половина вращает плоскость поляризованного света на одинаковое число градусов, направления этого вращения противоположны и поэтому суммарное вращение равно нулю. Такие соединения, которые являются оптически неактивными вследствие *внутренней компенсации*, называются *мезо*-формами. Существует только одна форма *мезо*-цистина, поскольку взаимная перестановка атома водорода и аминогруппы в формуле VII приводит снова к тому же соединению. Как и для других диастереомеров, рассмотренных выше, физические свойства *мезо*-цистина отличаются от свойств любой из оптически активных форм, так же как и от свойств эквимолекулярной смеси последних, т. е. рацемата.

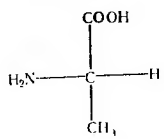
Приведенные трехмерные проекции молекул оказались слишком неудобными для изображения на плоскости. Столкнувшись с этой проблемой, Э. Фишер разработал в конце прошлого века легко воспринимаемую схему



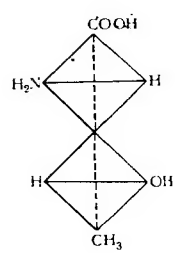
VIII



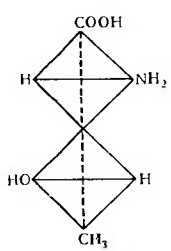
IX



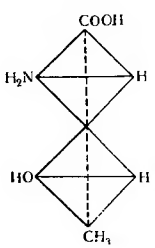
X



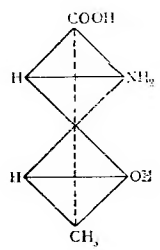
XI



XII



XIII



XIV

отображения пространственных отношений в тетраэдре с помощью плоских проекций. Для иллюстрации этой схемы здесь изображена конфигурация правовращающего аланина в соответствии с общепринятой диаграммой Фишера. Если взять атом водорода в качестве вершины непрозрачного тетраэдра (VIII) и посмотреть вниз вдоль связи C — H на другие три группы, то они, очевидно, будут располагаться в последовательности: метил, аминогруппа и карбоксил (при движении по часовой стрелке), что ясно видно из формулы IX. Следует иметь в виду, что пунктирная линия в IX обозначает невидимое ребро тетраэдра (VIII). При этом условии можно однозначно получить другие изображения такого же энантиомера, если тетраэдр спроецировать на бумаге в шести различных положениях, соответствующих шести его ребрам. В соответствии с принятым способом изображения формула X правовращающего аланина представляет вариант написания формулы IX. По этому же типу может быть получена принятая формула энантиомерной левовращающей формы аланина, если тот же способ написания использовать для зеркального изображения формулы VIII.

Исходя из трехмерных моделей аминокислот, содержащих второй центр асимметрии, можно предложить для них аналогичные рассмотренным выше упрощенные формулы. Хадсон [31] ясно изложил одно из необходимых для этого условий, выдвинутых вначале Фишером [32], а именно, что «все вершины, соединяющие асимметрические атомы углерода, будут лежать на одной прямой в плоскости бумаги, причем эту прямую будут составлять нижние ребра всех этих тетраэдров, а другие их вершины будут находиться выше этой плоскости по противоположным сторонам от этой линии». Для иллюстрации этого положения на стр. 14 показаны стереоизомерные формы треонина (XI и XII) и *алло*-треонина (XIII и XIV), выведенные из структур I—IV. Эти модели можно далее упростить до структурной формулы, например типа X.

Представление молекул с помощью плоских проекций позволяет легко изображать *относительные* конфигурации. В связи с этим следует отметить, что, несмотря на то обстоятельство, что аминокислоты, полученные из белков, могут быть или лево- или правовращающими, все они, согласно имеющимся в настоящее время данным, принадлежат к одному и тому же *конфигурационному ряду*, т. е. обладают одним и тем же относительным расположением в пространстве. Поэтому *наблюдаемое направление оптического вращения данного соединения нельзя считать обязательным указанием на его конфигурацию*. Разработано множество химических, физических и биологических методов установления конфигурационных взаимоотношений между аминокислотами. Такие методы более подробно рассмотрены в гл. 4. Имеется несколько прекрасных изложений общих аспектов оптической изомерии [33, 34].

3. Правила номенклатуры. За исключением глицина, все аминокислоты, которые до сих пор получали из белков гидролитическим действием кислот или протеолитических ферментов, оказались оптически активными, поскольку каждую из них выделяли из различных белковых гидролизатов и после тщательной очистки подвергали поляриметрическому анализу. В ранней литературе оптические антиподы аминокислот обозначали префиксом *d*- или *l*- для того, чтобы показать, является ли данное соединение в нейтральном растворе право- или левовращающим. Следует иметь в виду, что при использовании этой терминологии встречались и исключения. Это относится, например, к чрезвычайно трудно растворимым цистину и тирозину. Таким образом, названия с этими префиксами, например *d*-аргинин, *l*-триптофан и *l*-гистидин, применялись для оптических форм, выделенных из белковых гидролизатов.

Такие эмпирические обозначения перестали употреблять с того времени, когда на значительном количестве накопленных данных удалось однозначно доказать, что все очищенные аминокислоты, содержащиеся в белках, обладают одной и той же конфигурацией относительно асимметрического α-атома углерода. Эти доказательства, наиболее полно суммированные Нейбергером [35], основаны преимущественно на том, что: а) бо́льшую часть

этих аминокислот удалось превратить одну в другую или в структурно и конфигурационно идентичные соединения с помощью реакций, не затрагивающих α-атома углерода, б) изменения степени ионизации или длины волны (дисперсия вращения) вызывают сходные изменения в направлении оптического вращения аминокислот и в) эти аминокислоты или их производные чувствительны к действию одних и тех же оптически специфичных ферментов и, напротив, устойчивы к другим оптически специфичным ферментам. Все эти экспериментальные наблюдения согласуются друг с другом и не противоречат тому представлению, что очищенные аминокислоты, выделенные гидролизом белков, обладают одной и той же оптической конфигурацией относительно асимметрического α-углеродного атома.

Исходя из вышеупомянутых стереохимических отношений, Воль и Фрейденберг [36] в 1923 г. предложили схему номенклатуры, которая быстро завоевала всеобщее признание. Это предложение состоит в том, что действительное направление вращения обозначается знаком «минус», или «плюс», взятым в скобки, а буквенный префикс *d* или *l* применяется для указания конфигурационного ряда, к которому принадлежит α-асимметрический центр аминокислоты. Обозначения, принятые для аминокислот белкового происхождения по этой более новой системе, можно иллюстрировать следующими примерами: *l*-(+)-аргинин, *l*-(—)-триптофан и *l*-(—)-гистидин (вращение определено в водном растворе) и *l*-(+)-аргинин, *l*-(+)-триптофан и *l*-(+)-гистидин (измерение проводилось в кислом растворе). Однако из-за отсутствия общепринятого соглашения относительно системы растворителей, используемой при поляриметрическом анализе данной оптической формы, перед исследователями в конце концов возникла проблема выбора между нейтральным водным раствором и раствором, содержащим избыток минеральной кислоты. Хотя эти различия в растворителях в большинстве случаев приводят к одному и тому же знаку вращения, все же имеется несколько примеров, когда применение воды или кислоты приводит соответственно к названиям с префиксом *l*-(—) и *l*-(+). Такие расхождения в номенклатуре усугублялись в дальнейшем склонностью многих исследователей опускать знак плюс или минус, хотя такие пропуски часто вели к противоречиям в обозначениях вращения, примененных в более ранней литературе. Различные системы номенклатуры, приведенные в табл. 2, взяты из обзора Виккери [37].

Обозначение *d*-(—), которое позднее было применено к треонину белкового происхождения, оказалось почти бесполезным, но зато внесло свою долю в путаницу, возникшую в системе номенклатуры аминокислот. Любопытен принцип, положенный в основу употребления префикса *d* для этой аминокислоты, обладающей на самом деле такой же конфигурацией у α-углерода, как и другие белковые аминокислоты. Лучше всего он иллюстрируется собственными словами исследователей [38]: «Предлагается, чтобы впредь природная α-амино-β-окси-*н*-масляная кислота именовалась *d*-(—)-треонин, поскольку она обладает пространственной конфигурацией, аналогичной конфигурации *d*-(—)-треозы.... Индекс *d* относится здесь, конечно, к конфигурационному ряду, точно так же как это имеет место при классификации сахаров». Ввиду того, что новая аминокислота родственна треозе и что при этом использовалась система номенклатуры углеводов, префикс *d* стал обозначать принадлежность β-атома углерода к *d*-конфигурационному ряду, хотя асимметрический α-углеродный атом принадлежит здесь к *l*-ряду. Такое обозначение совершенно не соответствовало правилу, принятому в номенклатуре аминокислот, а именно тому, что префикс, определяющий конфигурацию, относится к α-атому углерода аминокислоты.

Таблица 2

Прежняя и современная номенклатура аминокислот

Аминокислота	Префикс: ранняя литература	Префикс: для водных растворов	Префикс: для растворов в кислоте	Современное обозначение
Аланин	*d*	*l* (+)	*l* (+)	L-Аланин
Аргинин	*d*	*l* (+)	*l* (+)	L-Аргинин
Аспарагиновая кислота	*d*	*l* (+)	*l* (+)	L-Аспарагиновая кислота
Валин	*d*	*l* (+)	*l* (+)	L-Валин
Гистидин [а]	*l*	*l* (—)	*l* (+)	L-Гистидин
Глутаминовая кислота	*d*	*l* (+)	*l* (+)	L-Глутаминовая кислота
Изолейцин	*d*	*l* (+)	*l* (+)	L-Изолейцин
Лейцин [а]	*l*	*l* (—)	*l* (+)	L-Лейцин
Лизин	*d*	*l* (+)	*l* (+)	L-Лизин
Метионин [а]	*l*	*l* (—)	*l* (+)	L-Метионин
Оксипролин	*l*	*l* (—)	*l* (—)	L-Оксипролин
Орнитин	*d*	*l* (+)	*l* (+)	L-Орнитин
Пролин	*l*	*l* (—)	*l* (—)	L-Пролин
Серин [а]	*l*	*l* (—)	*l* (+)	L-Серин
Тирозин	*l*	*l* (—)	*l* (—)	L-Тирозин
Тироксин [б]	*l*	*l* (—)	*l* (+)	L-Тироксин
Треонин	*d*	*d* (—)	*d* (—)	L-Треонин
Триптофан [а]	*l*	*l* (—)	*l* (+)	L-Триптофан
Фенилаланин	*l*	*l* (—)	*l* (—)	L-Фенилаланин
Цистеин [а]	*l*	*l* (—)	*l* (+)	L-Цистеин
Цистин	*l*	*l* (—)	*l* (—)	L-Цистин

[а] Эти аминокислоты вращают влево в водном растворе и вправо в водно-кислотном растворе.

[б] Тироксин слишком мало растворим в воде, что неудобно для наблюдения его вращения в этом растворителе; в щелочном растворе он вращает влево.

В связи с этой путаницей в номенклатуре, происходившей в результате почти совершенно беспорядочного употребления различных химических правил для обозначения конфигурации аминокислот, очень остро встал вопрос о необходимости новой системы номенклатуры. С этой необходимостью ученые вплотную столкнулись в 1947 г. в результате дискуссии между редакцией журнала «Journal of Biological Chemistry», редакционным комитетом Американского общества биохимиков в сотрудничестве с редакцией журнала «Biochemical Journal» и Комитетом Американского химического общества по номенклатуре, написанию и произношению.

Разработанные в результате новые правила номенклатуры (бо́льшая доля в замысле и разработке которых принадлежит Виккери) значительно облегчили номенклатуру аминокислот и приняты теперь в настоящее время в качестве официальной номенклатуры этих соединений. Эти правила, взятые из доклада Виккери [37], заключаются в следующем:

Правило 1. Конфигурационная принадлежность асимметрического α-атома углерода аминокислоты, способной к оптической изомерии, должна быть обозначена символом, предшествующим ее названию, однако если это особо оговорено или из контекста ясно, о каком изомере идет речь, символ может быть опущен.

Правило 2. Различение стереоизомеров аминокислот осуществляется с помощью *прописной буквы* D или L, обозначающей конфигурационный ряд, к которому принадлежит α-атом углерода. Эти D и L следует произносить как «дэ» и «эль», а не «декстро» и «лево». Дополнительный символ для обозначения направления вращения (т. е. знак плюс или минус, заключенный в скобки) не обязателен.

Примеры: L-лейцин, D-валин, L-фенилаланин, L-треонин.

Оптически неактивная смесь или рацемическое соединение стереоизомеров обозначается префиксом DL прописными буквами.

Примеры: DL-лейцин, DL-валин, DL-метионин.

Правило 3. Там, где возможна путаница, связанная с употреблением префикса в виде прописной буквы для обозначения как конфигурации α-углеродного атома по номенклатуре аминокислот, так и конфигурации следующих по номеру асимметрических атомов углерода в соответствии с номенклатурой углеводов, к прописной букве — префиксу — добавляется подстрочный индекс. Там, где префикс употреблен в соответствии с номенклатурой аминокислот, добавляется подстрочный индекс *s*; там, где префикс применен в значении номенклатуры углеводов, добавляется подстрочный индекс *g*. Эти индексы (изображаемые латинскими буквами более низкого кегля) производятся соответственно от серина как основного вещества, к которому можно формально отнести аминокислоты, напоминающие по структуре углеводы, и от глицеринового альдегида — основного вещества, от которого формально берут начало конфигурации углеводов.

Примеры: L_s-треонин, синонимом которого по номенклатуре углеводов является 2-амино-2,4-дидезокси-D_g-треоновая кислота, D_s-треонин (синоним — 2-амино-2,4-дидезокси-L_g-треоновая кислота), L_s-*алло*-треонин (синоним — 2-амино-2,4-дидезокси-L_g-эритроновая кислота), D_s-*алло*-треонин (синоним — 2-амино-2,4-дидезокси-D_g-эритроновая кислота). В статьях, в которых рассматриваются как углеводы, так и аминокислоты и в которых используются данные префиксы, следует применять подстрочные индексы, по крайней мере для названий аминокислот. Кислоты, производные от аминосахаров, должны именоваться в соответствии с номенклатурой углеводов, но с использованием подстрочных индексов, например D_g-глюкозаминовая кислота для 2-амино-2-дезокси-D_g-глюконовой кислоты.

Правило 4. Если конфигурационные отношения α-атома углерода точно не установлены, фактическое направление вращения в определенном растворителе, предпочтительно свободной аминокислоты в воде, обозначают либо префиксами *dextro* или *levo* (*курсивом*), либо с равным правом знаком плюс или минус, взятым в скобки.

Примеры: *dextro*-окситриптофан, или (+)-окситриптофан.

Правило 5. Префикс *мезо*- или его сокращение *ms*- (*курсивом*) употребляется для обозначения изомеров аминокислот и их производных, которые оптически неактивны вследствие внутренней компенсации.

Примеры: *мезо*-лантионин, *ms*-цистин.

Правило 6. В тех случаях, когда аминокислота имеет два центра асимметрии, построенных так, что внутренняя компенсация невозможна, форма, имеющая L-конфигурацию при *α-атоме углерода*, обозначается как L-аминокислота, а форма, которая имеет противоположную конфигурацию при *обоих асимметрических атомах* углерода, обозначается как D-аминокислота.

Примеры: L-треонин, окси-L-пролин, L-изолейцин — для изомеров полученных из белков; D-треонин, окси-D-пролин, D-изолейцин — для их оптических изомеров.

Диастереомеры этих веществ обозначаются префиксами L-*алло* и D-*алло*, связанными с соответствующими названиями, причем буква префикса в каждом случае обозначает конфигурационный ряд *α-углеродного атома*.

Примеры: L-*алло*-треонин, *алло*-окси-L-пролин, L-*алло*-изолейцин, D-*алло*-треонин, *алло*-окси-D-пролин, D-*алло*-изолейцин.

Правило 7. Соли и производные аминокислот, включая пептиды, обозначаются с помощью *прописной буквы*, указывающей на конфигурационный ряд *α-атома* (или *атомов*) *углерода*, причем эту букву ставят непосредственно перед названием родоначальной кислоты или ее радикала. В остальных случаях соблюдаются обычные правила номенклатуры.

Примеры: моногидрат монохлоргидрата L-гистидина, L-аспарагинат меди, дихлоргидрат D-орнитина, ацетил-L-триптофан, диэтиловый эфир D-глутаминовой кислоты, 4-окси-L-пролин, 3,5-дииод-L-тирозин, β-окси-DL-глутаминовая кислота, L-лейцил-L-валин, глицил-DL-лейцин.

Правило 8. Если соединение, несущее тривиальное название, содержит два остатка α-аминокарбоновой кислоты, связанных с углеродными цепями различной величины, то конфигурационное обозначение дается по α-атому углерода более короткой цепи.

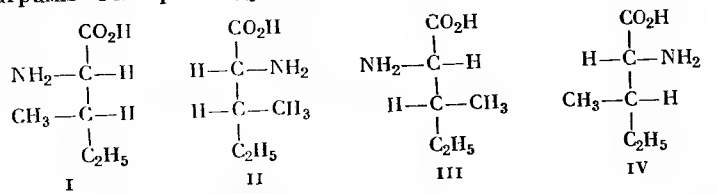
Пример: D-цистатионин для S-(D-β-амино-β-карбоксиэтил)-D-гомоцистеина.

Однако без веских на то причин следует избегать введения новых тривиальных названий.

Применение приведенных выше правил наименования большинства аминокислот, найденных до сих пор в белках, иллюстрируется последней графой табл. 2. Такие названия в настоящее время вполне отвечают всем требованиям и являются вполне однозначными. Однако следует заметить, что эти обозначения не отражают конфигурацию иных центров, кроме α-асимметрических, в тех случаях, когда имеются такие дополнительные центры асимметрии. Так, например, показано, что L-треонин, L-фенилсерин и L-изолейцин содержат второй асимметрический центр, принадлежащий соответственно к D-, D- и L-рядам. Соответствующие L-*алло*-формы обладают, разумеется, противоположными конфигурациями у ω-атома углерода. Теперешнее употребление термина *алло* не дает тем самым иного указания на конфигурацию ω-центра асимметрии, кроме того, что она противоположна конфигурации соответствующей нормальной формы аминокислоты.

Из-за отсутствия единообразной номенклатурной схемы для диастереоизомерных молекул этого типа Консультативный комитет по конфигурационной номенклатуре Американского химического общества под председательством Виккери предложил новую общую систему наименования стереоизомеров [39]. Эта система, которая до настоящего времени не получила еще официального статуса, возникла в результате предложений, сформулированных Мак-Каслендом. Ее легко можно пояснить на примере L-изолейцина, конфигурация β-асимметрического центра которого выяснена [40—42]. Эту молекулу и ее стереоизомеры можно представить в виде обыч-

ных диаграмм Фишера следующим образом:



где I—IV изображают соответственно L-, D-, L-*алло*- и D-*алло*-изолейцин. Согласно предложенной схеме номенклатуры, эти соединения получат соответственные обозначения как L(2,3)R-, D(2,3)R-, L(2)R- и D(2)R-изолейцин. При этом конфигурационный символ L или D идентифицируется символом пронумерованного местоположения, т. е. (2) или (2,3). Нумерация производится таким образом, чтобы конфигурационные префиксы получили наименьшие номера. Применение символа в виде прописного R указывает на то, что префикс L- или D- обозначает конфигурацию *оптически активных* стереоизомеров по отношению к известному соединению сравнения. В случае *оптически неактивных* стереоизомеров вместо R применяется алфавитный символ в виде прописного A. Так, *мезо*-α,ε-диаминопимелиновую кислоту можно назвать *мезо*-(2,6)*A*-диаминопимелиновой кислотой. Руководствуясь этой системой, можно правильно идентифицировать все асимметрические центры в мультиасимметрическом соединении.

4. Критерии нахождения аминокислот в природе. Аминокислоты белкового происхождения, перечисленные в табл. 1, соответствуют в общем основным критериям, необходимым для отнесения их к этому типу соединений. Эти критерии были выдвинуты вначале Шульце и Ликирником [43]. Виккери и Шмидт [44] вновь подчеркнули их значение и уточнили их. Они состоят в следующем:

1. Для того чтобы аминокислота считалась определенным продуктом гидролиза белков, она должна быть выделена, помимо ее первооткрывателя, еще по крайней мере одним исследователем.
2. Ее строение должно быть установлено синтезом, причем должно быть показано, что синтетический продукт идентичен либо рацемату природного продукта, либо — после оптического разделения синтетического продукта — оптически активному природному изомеру.
3. Вещество должно быть выделено гидролизом препарата белка, чистота которого доказана, и оно должно быть в достаточной степени охарактеризовано анализом солей и типичных производных.

Насущная необходимость в таких критериях лучше всего обобщена в высказываниях самих исследователей [44]:

«Хотя эти критерии могут показаться несколько произвольными, они необходимы до тех пор, пока не будет выработан один критерий, позволяющий признать все то множество препаратов, которые время от времени описывали как определенные однородные продукты полного гидролиза белков, но для которых не было представлено убедительных доказательств их строения. Было совершено слишком много ошибок, и это оправдывает любое придирчивое, но тщательно обоснованное отношение к вновь открытым аминокислотам. Даже высшие авторитеты допускали ошибки; сам Фишер описал в 1904 г. диаминотриоксидодекановую кислоту, но отверг ее в 1917 г.».

Об общем значении этих критериев в формировании более критического и более сдержанного отношения к признанию новых аминокислот говорилось не раз, поэтому нет необходимости в дальнейших комментариях на этот счет. Однако из последующих разделов станет очевидным, что эти критерии нуждаются в пересмотре. Следует отметить, что это необходимо

не только из-за разработки более усовершенствованных методов, но и вследствие изменений во взглядах биохимиков, вызванных появлением этих методов.

Первоначальный список общепризнанных аминокислот, предложенный Виккери и Шмидтом [44] в 1931 г., содержал не только большинство соединений, приведенных в табл. 1, но включал также и β-оксиглутаминовую кислоту. В него не входили, однако, треонин, оксилизин, аспарагин, глутамин и трииодтиронин. Примерно двумя годами позже Шмидт [45] рекомендовал включить в этот список норлейцин, поскольку он, очевидно, соответствовал принятым критериям. Однако ни β-оксиглутаминовая кислота, ни норлейцин не фигурируют в принятом списке и в настоящее время. Сейчас звучит довольно парадоксально, что казавшиеся неопровержимыми доказательства белкового происхождения этих двух соединений оказались впоследствии столь шаткими, что ни одну из этих аминокислот в настоящее время нельзя серьезно считать составной частью белков. Краткая история их «открытия», вероятно, даст более ясное представление о сказанном.

а) Норлейцин. В 1884 г. Тадичам [46] предположил, что в гидролизатах нейропластина присутствует норлейцин. Непосредственной кристаллизацией была получена неочищенная лейциновая фракция, из которой после очистки через медную соль был выделен продукт, отличающийся по растворимости от лейцина. Однако однозначных доказательств, которые позволили бы приписать этому продукту строение норлейцина, представлено не было. Эта проблема была исследована в дальнейшем Абдергальденом и Вейлем [47], которые в 1912 г. выделили из гидролизатов белка нервной ткани соединение, отличавшееся по оптическим свойствам от лейцина и изолейцина, но аналитические данные которого соответствовали изомеру лейцина. В дальнейшем эти же исследователи [48] установили идентичность этого вещества с α-амино-*н*-капроновой кислотой, позднее [49] названной норлейцином. Наконец, Абдергальден и Вейль [50] показали близкое сходство температур плавления нафталинсульфонильных производных природного вещества и синтетического образца. Подтверждением этим фактам послужило сообщение Чарнецкого и Шмидта [51] о выделении норлейцина из белка спинного мозга. Идентичность этого продукта с синтетическим норлейцином, установленная измерениями кристаллической структуры его самого, его медной и серебряной соли, а также по парциальным давлениям диссоциации хлоргидрата норлейцина на аммиак и хлористый водород, позволила причислить его к списку общепризнанных аминокислот. По-видимому, все критерии сходились. Однако несмотря на большое число, казалось бы, положительных данных, накопленных со временем, вопрос о существовании норлейцина в белках был вновь поднят Конседеном, Гордоном, Мартином, Розенхеймом и Синджем [52]. Эта блестящая работа вылилась в два совершенно непредвиденных открытия: во-первых, аутентичный образец «норлейцина» оказался на самом деле лейцином и, во-вторых, в гидролизатах бычьего спинного мозга путем хроматографического анализа не было обнаружено признаков присутствия норлейцина. Поэтому норлейцин был изъят из списка признанных аминокислот.

б) Оксиглутаминовая кислота. В 1918 г. Дэкин [53] сообщил о выделении им из гидролизатов казеина не описанной до тех пор моноаминодикарбоновой кислоты. Эта кислота вместе с другими неэкстрагируемыми основными и дикарбоновыми кислотами содержалась в водной части гидролизата, предварительно подвергнутой исчерпывающей экстракции бутиловым спиртом для удаления нейтральных аминокислот. Из водной фракции

было выделено оптически активное кристаллическое вещество в количестве 10,5% от веса белка. На основании результатов формольного титрования было доказано наличие в нем двух карбоксильных групп. В свете аналитических данных, реакций расщепления, химического поведения и полученных производных было предположено, что это вещество является β-оксиглутаминовой кислотой. Год спустя Дэкин [54] описал синтез этого последнего соединения и в то же время уточнил его вероятное содержание в казеине. Оказалось, что оно составляет 2—3%. Спустя три года после открытия этой аминокислоты появилось сообщение [55], подтверждавшее присутствие ее в лактальбумине (до 10%). Впоследствии сообщалось, что β-оксиглутаминовая кислота содержится в количестве 2,5% в зеине [56], 7,7% в глиадине [57] и составляет значительную долю казеинового фосфопептона [58]. Полученные данные удовлетворяли принятым критериям, и поэтому эта кислота была включена в список белковых аминокислот, составленный в 1931 г. Однако тогда же возникло сомнение относительно существования в природе оксиглутаминовой кислоты. Это произошло в результате работы Харингтона и Рендалла [59], которым не только не удалось выделить эту кислоту, но и пришлось поставить под сомнение ценность некоторых выводов, сделанных Дэкином. Эти сомнения усугубились спустя еще три года, когда Галланд и Моррис [60] показали с помощью метода ионофореза, что в казеине содержится лишь 0,3% этой аминокислоты. Несмотря на эти данные, в литературе продолжали появляться все новые сообщения [61—63] об успешном выделении оксиглутаминовой кислоты из казеина. Лишь Николе и Шинн [64] в своем классическом сообщении, озаглавленном «Существует ли оксиглутаминовая кислота в белках молока?», на основании результатов окисления иодной кислотой доказали, что из β-оксикислот в белках молока в сколько-нибудь заметных количествах содержатся только серин и треонин. На основании полученных результатов эти авторы [64] пришли к следующим выводам:

«Мы можем лишь вывести заключение, что: а) лично никогда не встречали каких-либо доказательств существования оксиглутаминовой кислоты в белках; б) мы вполне доверяем тем химикам, которые в прошлом сообщали о ней, и надеемся, что она в какой-то степени существует в белках молока; в) мы настаиваем на том, что ее содержание в казеине и лактальбумине, остающееся после гидролиза, не может превышать 0,3%, величину, найденную Галландом и Моррисом; г) если подтвердится выраженная выше надежда на то, что в какой-то степени эта кислота существует, то, следовательно, наши методы несколько менее точны, чем мы полагали; д) во всяком случае, мы впервые предлагаем метод надежного исследования образцов, о которых можно предположить, что они являются оксиглутаминовой кислотой».

В свою очередь Дэкин в своем кратком сообщении [65] немедленно присоединился к выводам о недостоверности наличия β-оксиглутаминовой кислоты в казеине. Однако оставались еще сомнения в отношении того, не является ли оксиглутаминовая кислота γ-оксикислотой. Но в 1943 г. Бейли, Чибналл, Рис и Уильямс [66] показали, что фракции «оксиглутаминовой кислоты» на самом деле являются сложными смесями, содержащими глутаминовую кислоту, серин и некоторые другие аминокислоты, а также продукты их превращения. Это завершило споры, и оксиглутаминовая кислота была исключена из списка аминокислот белкового происхождения. Наконец, в 1954 г. Дент и Фаулер [67] с помощью хроматографии на бумаге доказали, что образец, аутентичный первоначальному веществу Дэкина, представлял собой смесь нескольких аминокислот, среди которых не было и следов β-оксиглутаминовой кислоты.

Прежние интенсивные поиски новых аминокислот в белках значительно затруднялись преждевременными и не подкрепленными фактами сообщениями. Сообщения о присутствии в белках многих «новых» аминокислот в дальнейшем не находили подтверждения. Такую ошибку совершил Э. Фишер. В 1904 г. он совместно с Абдергальденом [68] сообщил о присутствии в казеине насыщенной алифатической оксиаминокислоты, названной диаминотриоксидодекановой кислотой. Химическое строение этого вещества никогда не было установлено и заявление о его нахождении в природе было опровергнуто в 1917 г., когда Фишер [69] высказал сомнения в его химической чистоте и однородности. Сообщалось также о нахождении в белках других аминокислот, таких, как диаминоглутаровая [70], диаминоадипиновая [70], оксиаспарагиновая [70], диоксидиаминопробковая [70], казеиновая [70], саркозин [71], окситриптофан [72], 6-окси-2,3-дигидроиндолил-3-аланин [73], бутирин [50, 74, 75], диоксипирролаланин [76], α-аминоадипиновая кислота [77], оксивалин [7, 78] и норвалин [79, 80], однако такие сообщения либо до сих пор не получили надлежащего подтверждения, либо впоследствии оказались сомнительными.

Опыт показал, что некоторые аминокислоты могут возникнуть в результате распада белков, хотя сами по себе они не являются составными частями белка. Так, аргинин можно выделить из кислых белковых гидролизатов, но щелочной гидролиз тех же белков сопровождается разложением этой аминокислоты до орнитина. Другой иллюстрацией возникновения таких артифактов является выделение неактивного лантионина из кислых гидролизатов шерсти, волос, лактальбумина и некоторых других белков [81], предварительно обработанных щелочью. Предполагают, что обработка такого белка разбавленной щелочью вызывает частичное обессеривание остатков цистина и сопутствующее этому процессу образование лантионина. Из тех же самых белков, подвергнутых кислотному гидролизу без предварительной обработки щелочью, был получен цистин, но не лантионин. Еще одним примером такого рода является выделение орнитина из гидролизатов коллагеновых белков, предварительно обработанных известью [82]; орнитин, очевидно, образовывался за счет аргинина, разрушавшегося при щелочной обработке белка. Аналогичная ситуация приведена в сообщении [83], касающемся выделения окситриптофана (β-оксиндолил-L-аланина) из кислых гидролизатов токсичного циклогексапептида — фаллоидина. Позже было показано, что эта аминокислота возникает при гидролизе как артифакт, возможно, вследствие изменений каких-либо других 2-замещенных индола [84, 85].

Следует, таким образом, еще раз подчеркнуть, что некоторые аминокислоты, выделяемые из белковых гидролизатов, могут возникать либо под влиянием условий гидролиза, либо в результате предшествовавшей обработки белка, и не обязательно должны присутствовать как таковые в нативном белке.

Преобладающая часть α-аминокислот, встречающихся в природе либо в составе белков, либо в качестве компонентов более низкомолекулярных пептидов, а также в свободном состоянии, принадлежит к L-конфигурационному ряду. Однако за последние годы появляется все больше сообщений, указывающих на широкое распространение в природе, главным образом среди продуктов метаболизма низших организмов, аминокислот с D-конфигурацией. Некоторые примеры приведены в табл. 3 [86—107].

Нельзя, однако, отвергать возможность того, что в белках как животного, так и растительного происхождения могут содержаться в качестве составных частей и D-аминокислоты. Следует подчеркнуть, что аминокислоты, выделенные до сих пор из белковых гидролизатов и имеющие L-конфигурацию, являлись специально очищенными препаратами. Примененные

Таблица 3

Некоторые D-аминокислоты, встречающиеся в природе

Аминокислота	Источник	Литература
D-Аланин	*Lactobacillus arabinosus*; пептид, выделенный из клеток *Staphyllococcus aureus*, обработанных пенициллином	86 87
D-Серин	Полимиксин D	88, 89
D-Валин	Грамицидины	90, 91
	Актиномицин C	92—94
D-Лейцин	Грамицидин A	95
	Полимиксины	88, 96, 97
	Этамицин	98
	Циркулин	99
D-Изолейцин	Бацитрацин	100
D-*алло*-изолейцин	Актиномицин C	93
D-Фенилаланин	Грамицидин S	101
	Тироцидин	102
D-Глутаминован кислота	*Lactobacillus arabinosus*; капсулы *Bacillus anthracis* и группа *B. mesentericus-subtilis*; пептид, выделенный из клеток *S. aureus*, обработанных пенициллином	103 104, 105 87
D-Пролин [a]	Эргоалкалоиды	106
	Эргокорнин	107
D-*алло*-Оксипролин	Этамицин	98

[a] Возможно, является L-пролином.

способы очистки могли во многих случаях удалить из них не только примеси других аминокислот, но и, возможно, также заметные количества их собственных рацемических модификаций. Присутствие переменных количеств рацемических форм некоторых аминокислот (глутаминовой кислоты, пролина, гистидина, оксилизина и т. п.) в белковых гидролизатах известно давно, причем чаще всего его объясняли рацемизацией L-форм во время гидролиза (ср. с работой [108]). Хотя такая рацемизация несомненно в какой-то степени происходит в жестких условиях гидролиза, применяемых довольно часто, нельзя полностью отрицать присутствия в белках D-аминокислотных остатков. Присутствия таких остатков достаточно, чтобы придать белковой молекуле известные особенности пространственной конфигурации и чувствительности к ферментам. До сих пор, однако, не имеется бесспорных доказательств наличия D-аминокислотных остатков в белках.

Помимо аминокислот, являющихся составными частями белков, в природе найден ряд аминокислот, которые находятся или в свободном состоянии, или химически связаны с молекулами небелковых соединений различной величины. Такие аминокислоты наряду с другими соединениями были обнаружены в кровеносной системе и других тканях тела, среди продуктов выделения, в качестве промежуточных соединений процессов обмена веществ, компонентов антибиотиков и продуктов бактериального разложения. Ряд таких аминокислот приведен в табл. 4.

Существование в природе некоторых из перечисленных аминокислот, например орнитина, цитруллина и диаминопимелиновой кислоты, установлено, бесспорно, на основании большого количества экспериментальных данных. Для некоторых других аминокислот, однако, до сих пор не имеется достаточно сведений, которые надежно доказывали бы их существование в природе. Поэтому список, приведенный в табл. 4, следует считать лишь приближенным.

Из всего вышесказанного можно сделать некоторые любопытные выводы. Во-первых, не выдержали проверки временем сообщения о присутствии в природных белках по крайней мере двух аминокислот, хотя ранее казалось, что эти сообщения удовлетворяют известным строгим критериям. Во-вторых, в прошлом сообщалось, а фактически сообщается и сейчас, об открытии в белках множества новых аминокислот; некоторые из этих сообщений со временем утратили ценность, другие же по существу не получили подтверждения. В-третьих, в условиях гидролиза некоторые аминокислоты, не содержащиеся в нативном белке, можно тем не менее выделить как артифакты из гидролизатов этого белка. Наконец, непрерывный поток сообщений о нахождении в природе новых небелковых аминокислот как D-, так и L-ряда требует создания критериев, соответствие которым надежно подтверждало бы их существование в природе. Поэтому, учитывая опыт, накопленный до появления критериев Виккери и Шмидта, а также развитие за последние годы новой и более удобной техники эксперимента, с помощью которой найдено много новых природных аминокислот, в настоящее время следовало бы видоизменить и расширить применявшиеся ранее критерии. Предложения такого рода сформулированы ниже.

Критерии действительного существования аминокислоты в природе (предложения)

А. В свободном состоянии

1. Для гарантии однородности аминокислоты хроматографические методы — двумерная хроматография на бумаге с использованием смесей различных растворителей или элюирование с колонки с применением смесей различных растворителей — должны привести соответственно к единственному пятну или пику.

2. Выделение аминокислоты в количестве, достаточном для получения данных элементарного анализа на C, H, N и другие возможные элементы.

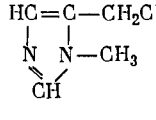
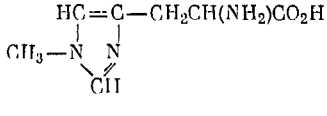
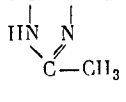
3. Расщепление с помощью методов органической химии на идентифицируемые продукты или фрагменты, дающие возможность установить строение аминокислоты.

4. Определение оптических характеристик аминокислоты посредством: а) измерения оптического вращения в воде и в сильнокислых растворах, б) измерения дисперсии оптического вращения аминокислоты и ее медных комплексов или других подходящих производных и в) использования биологических критериев, например действия оксидаз L- и D-аминокислот на свободные аминокислоты или действия ацилаз, амидаз и пептидаз на подходящие производные в тех случаях, где они применимы.

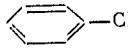
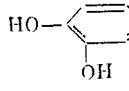
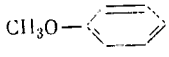
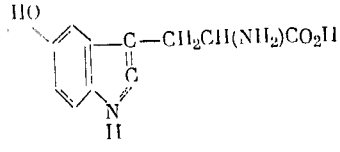
5. Синтез аминокислоты однозначным методом с последующим разделением на оптические антиподы (в случае моноасимметрических аминокислот) и сравнение физических, химических и биологических свойств этих антиподов с антиподами природного вещества; в случае мультиасимметрических аминокислот разделению на оптические антиподы должно, естественно, предшествовать выделение диастереомеров.

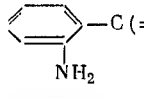
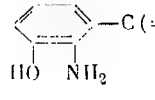
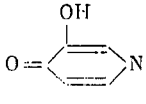
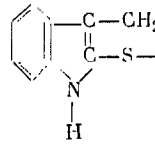
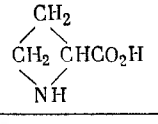
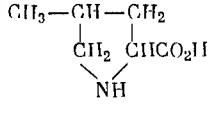
Таблица 4

Природные аминокислоты небелкового происхождения

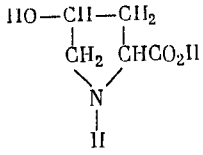
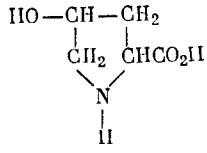
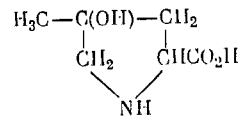
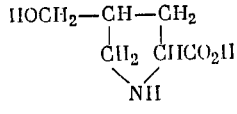
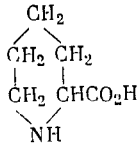
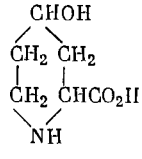
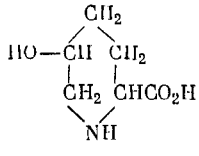
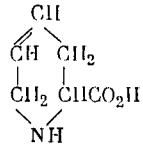
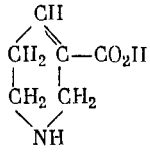
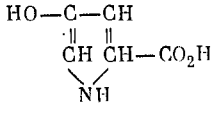
Аминокислоты	Формула	Источник
	Моноаминодикарбоновые кислоты	
γ-Метилглутаминовая	$HO_2CCH(CH_3)CH_2CH(NH_2)CO_2H$	*Phyllitis* (папоротник) [109]
γ-Метиленглутаминовая	$HO_2CC(=CH_2)CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Арахис [110—112]
γ-Метиленглутамин	$H_2NOCC(=CH_2)CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Тюльпан [113]
γ-Оксиглутаминовая	$HO_2CCH(OH)CH_2CH(NH_2)CO_2H$	*Phlox decussata* [114]
β, γ-Диоксиглутаминовая	$HO_2CCH(OH)CH(OH)CH(NH_2)CO_2H$	Кресс (*Lepidium*), *Rheum rhaponticum* [115, 116]
γ-Метил-γ-оксиглутаминовая	$HO_2CC(OH)(CH_3)CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Различные папоротники [109, 117]
α-Аминоадипиновая	$HO_2CCH_2CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	*Vibrio cholerae* [118], моча человека [119], горох и другие растения [120]; D-изомер найден в цефалоспорине [121, 122]
α-Амино-γ-оксиадипиновая	$HO_2CCH_2CH(OH)CH_2CH(NH_2)CO_2H$	*Vibrio cholerae* [118]
α-Аминопимелиновая	$HO_2CCH_2CH_2CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	*Asplenium septentrionale* [123, 124]
α-Амино-γ-оксипимелиновая	$HO_2CCH_2CH_2CH(OH)CH_2CH(NH_2)CO_2H$	*Asplenium septentrionale* [124]
	Диаминокарбоновые кислоты	
β-Аминоаланин	$CH_2(NH_2)CH(NH_2)CO_2H$	Виомицин [125]
γ-Аминобутирин (обычно L-форма)	$CH_2(NH_2)CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Аэроспорин [126], полимиксин [88, 96, 127, 128], циркулин [99, 129], полипептин [130, 131], комирин [132]
L-Орнитин	$CH_2(NH_2)CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	В виде орнитуровой кислоты в птичьем помете [133, 134], печень акулы [135], тироцидин [102, 136], грамицидин S [101, 137—139]
L-Канаванин	$H_2NC(=NH)NH—O—CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Бобы *Canavalia* [140, 141], *Colutea arborescens* [142]
1-Метил-L-гистидин		Ансерин [143, 144], моча человека [145, 146]
3-Метил-L-гистидин		Моча человека [147, 148]
2-Метил-L-гистидин		Мышцы змеи [149—151]

Продолжение табл. 4

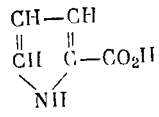
Аминокислоты	Формула	Источник
	Диаминодикарбоновые кислоты	
α,ε-Диаминопимелиновая кислота (L- или *мезо*-форма, или обе вместе)	$HO_2CCH(NH_2)CH_2CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	*Cornybacterium diphtheriae* [152], *Mycobacterium tuberculosis* [153], другие бактерии [154—156], безлизиновый мутант *E. coli* [157]
Табтоксинин	$HO_2CCH(NH_2)CH(OH)CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Токсин *Pseudomonas tabaci* [158, 159]
	Ароматические аминокислоты	
α-Амино-β-фенилмасляная кислота	 $—CH(CH_3)CH(NH_2)CO_2H$	Боттромицин из *Streptomyces bottropensis* [160]
3,4-Диоксифенил-L-аланин	 $HO—$ $—CH_2CH(NH_2)CO_2H$ OH	*Vicia faba* [161, 162], бархатные бобы [163], семена *Mucuna pruriens* [164]
О-Метиловый эфир L-тирозина	 $CH_3O—$ $—CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Пуромицин из *Streptomyces alboniger* [165, 166]
5-Окситриптофан (вероятно, L-конфигурация)	 HO $—C$ $—CH_2CH(NH_2)CO_2H$ C N H	*Bufo marinus* (тропическая жаба) [167], *Chromobacterium violaceum* [168]

L-Кинуренин	 $—C(=O)CH_2CH(NH_2)CO_2H$ NH_2	Моча животных, которым был введен L-триптофан [169, 170], моча туберкулезных больных [171], патологическая моча [172]
3-Оксикинуренин	 $—C(=O)CH_2CH(NH_2)CO_2H$ HO NH_2	Разные виды патологической мочи [171, 172]
Мимозин, или лейценол	 OH $O=$ $N—CH_2CH(NH_2)CO_2H$	*Mimosa pudica* L. [173], *Leucaena glauca* (Bent.) [173—175]
2-S-(β-Карбокси-β-аминоэтил)-триптофан (предположительно)	 $—C$ $—CH_2CH(NH_2)CO_2H$ C $—S—CH_2CH(NH_2)CO_2H$ N H	Из ядовитых грибов [176]
	Гетероциклические аминокислоты	
Азетидинкарбоновая-2 кислота	 CH_2 CH_2 $CHCO_2H$ NH	Листья *Convallaria majalis* (ландыша) [177—180], *Liliaceae* [178]
4-Метилпролин	 $CH_3—CH—CH_2$ CH_2 $CHCO_2H$ NH	Яблоки [181]

Продолжение табл. 4

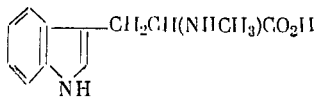
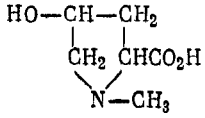
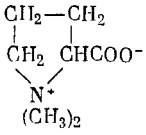
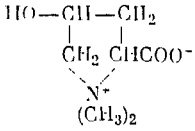
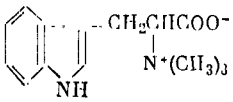
Аминокислоты	Формула	Источник
L-*алло*-Оксипролин		Из *Amanita phalloides* [83, 182], листья сандалового дерева (*Santalum album*) [183]
D-*алло*-Оксипролин		Этамицин [98]
4-Окси-4-метилпролин, или 4-оксиметилпролин	 	Из побегов яблони [184—186]
L-Пипеколиновая кислота		Яблоки [187], бобовые [188] листья ползучего клевера (*Trifolium repens*) [189], культуральная жидкость от ферментации *Neurospora* на лизинсодержащих средах [190], финики [117]
4-Оксипипеколиновая кислота		*Acacia pentadena* [191]
5-Окси-L-пипеколиновая кислота		Финики [117, 192], *Acacia*, *Rhapis flabelliformis* [193]
L-Байкиаин		Финики [117], *Baikiaea plurijuga* (тик) [194]
Гувацин		Орехи бетель (*Areca catechu*) [195, 196]
Оксиминалин		*Penicillium* и *Aspergillus* [197]

Продолжение табл. 4

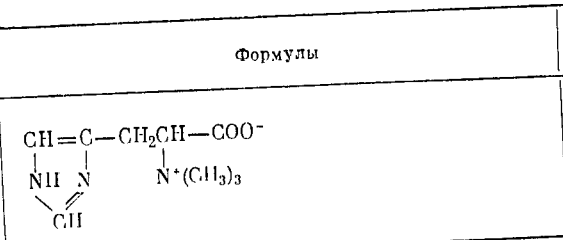
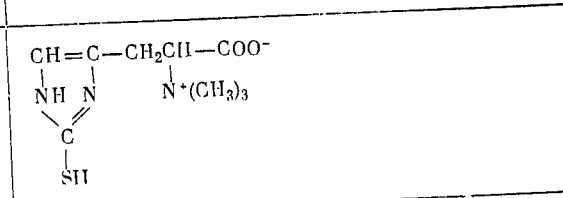
Аминокислоты	Формула	Источник
Миналин		Такадиастаза (очищенная диастаза) [198]
Аминооксикислоты		
α-Оксиаланин (в пептидных связях)	$CH_3C(OH)(NH_2)CO_2H$	Эрготамин, эрготаминин [199]
α-Оксивалин (в пептидных связях)	$(CH_3)_2CHC(OH)(NH_2)CO_2H$	Эрготоксин, эрготинин [199]
α-Метилсерин	$HOCH_2C(NH_2)(CH_3)CO_2H$	Амицетин из *Streptomyces* [200]
L-Гомосерин	$HOCH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Безметиониновый мутант *Neurospora* [201], растение гороха [202—204], другие зеленые растения [120]
Пантонин	$HOCH_2C(CH_3)_2CH(NH_2)CO_2H$	Клетки *E. coli* [205]
δ-Оксилейцинин	$HOCH_2C(CH_3)=CHCH(NH_2)CO_2H$	Из ядовитого гриба — *Amanita phalloides* [176]
Аминокислоты, содержащие серу		
S-Метил-L-цистеин	$CH_3SCH_2CH(NH_2)CO_2H$	Фасоль (*Phaseolus vulgaris*) [206], *Neurospora crassa* [207], бобовые [208]
S-Метил-L-цистеинсульфоксид	$O \leftarrow S(CH_3)CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Капуста [209, 210], турнепс [211, 212], бобовые [208]
L-Цистеинсульфиновая кислота	$HO_2SCH_2CH(NH_2)CO_2H$	Мозг крысы [213]
L-Цистеиновая кислота	$HO_3SCH_2CH(NH_2)CO_2H$	Овечья шерсть (внешние части) [214]
L-Гомоцистеин	$HSCH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Мутанты *Neurospora* [215], экстракты надпочечников человека [216]
Метионинсульфоксид	$O \leftarrow S(CH_3)CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Моча при синдроме Фанкони [217]
Метилсульфониевая соль метионина	$(CH_3)_2S^+CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Спаржа [218], капуста [219]
L-Дьенколевая кислота	$CH_2(SCH_2CH(NH_2)CO_2H)_2$	Дьенколовые бобы [220—223]
Лантионин	$S(CH_2CH(NH_2)CO_2H)_2$	Кислотный гидролизат телячьей плазмы [224], субтилин (*мезо*-форма) [225], низин [226], цинамицин [227], мышца саранчи [228], волосы [229]
β-Метиллантионин	$HO_2CCH(NH_2)CH(CH_3)-S-CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Цинамицин [227], низин [230], субтилин (обессеривание ведет к L-аланину и D-бутирину) [231], дрожжи [231]

Продолжение табл. 4

Аминокислоты	Формула	Источник
Цистатионин	$HO_2CCH(NH_2)CH_2—S—CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Вика (*Astragalus pectinalis*, также с Se) [232], L-форма найдена в *Neurospora* [215] и в моче крыс, получавших недостаточное количество пиридоксина [233]
D-Пеницилламин	$(CH_3)_2C(SH)CH(NH_2)CO_2H$	Пенициллин [234]
L-Аллиин	$CH_2=CHCH_2—\overset{O}{\uparrow}S—CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Чеснок [235]
Феливин	$HOCH_2CH_2C(CH_3)_2—S—CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Моча кошки [236]
	α-N-Метилированные аминокислоты	
Саркозин	$CH_2(NHCH_3)CO_2H$	*Echinoderms* (морские звезды) [237], продукт обмена веществ у крыс [238], олений мох [239], актиномицин [240, 241], этамицин [98]
N-Метил-L-фенилглицин	$C_6H_5CH(NHCH_3)CO_2H$	Этамицин [98]
N-Метил-L-валин	$(CH_3)_2CHCH(NHCH_3)CO_2H$	Актиномицин [92—94, 240—242], энниатин A [243, 244]
N-Метил-β-метил-L-лейцин	$(CH_3)_2CHCH(CH_3)CH(NHCH_3)CO_2H$	Этамицин [98]
D-Суринамин	$HO—C_6H_4—CH_2CH(NHCH_3)CO_2H$	Кора капустного дерева (*Geoffroya surinamensis*), экстракт *Rhatania* [245, 246]

L-Абрин		Семена *Abrus precatorius* [247—249]
γ-Окси-N-метилпролин (4-оксигигриновая кислота)		Кора *Croton gubouga* [250]
Бетаин глицина (лицин)	CH_2COO^- $\lvert$ $N^+(CH_3)_3$	Сахарная свекла (*Beta vulgaris*) [252, 253], *Lycium barbarium* [251], другие растения и животные [254]
Бетаин L-орнитина	$HO^-N^+(CH_3)_3—CH_2CH_2CH_2CHCOO^-$ $\lvert$ $\lvert$ $N^+(CH_3)_3$	Мышцы собаки, лошади [255, 256], мышцы человека [257]
Бетаин L-пролина (стахидрин)		*Stachys tubifera* (китайский артишок) [258, 259], листья апельсина [259], альфальфа [260], *Arca noae* [261]
Турицин (бетаин D-*алло*-оксипролина). Бетонициин (бетаин L-оксипролина)		*Betonica officinalis* L., *Stachys sylvatica* L. [262, 263], бобы *Canavalia* [264]
Бетаин L-триптофана (гипафорин)		Семена *Erythrina hypaphorus Boerl.* [265, 266], *Erythrina variegata var. orientalis* (семена дандан) [267]

Продолжение табл. 4

Аминокислоты	Формулы	Источник
Бетаин гистидина (герцинин)		Из грибов *Agaricus campestris* [268], *Boletus edulis* [269]
Бетаин гистидинтиола (эрготионин)		Спорынья [270], кровяные тельца [271, 272], ткани крысы (особенно печень) [273]

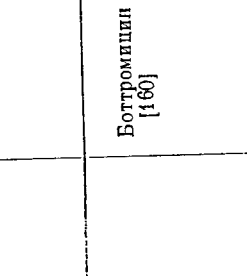
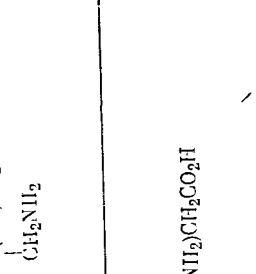
Разные α-аминокислоты

Бутирин (α-амино-*н*-масляная кислота)	$CH_3CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Моча при синдроме Фанкони [217, 274], экстракт картофеля [275], в пептидах хрусталика [276], животные ткани [277]
1-Аминоциклопропанкарбоновая-1 кислота	CH_2 $CH_2—C(NH_2)CO_2H$	Брусника [278], груши и яблоки [279]
L-Цитруллин	$H_2NC(=O)NHCH_2CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Арбузы [280, 281], ольха [282, 283], семена трав и *thallus* [284]
L-Фосфоаргинин	$(H_3PO_4)H_2NC(=NH)NHCH_2CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Мышцы ракообразных [285, 286]
D-Октопин	$H_2NC(=NH)NHCH_2CH_2CH_2CHCO_2H$ $\vert$ $NHCH(CH_3)CO_2H$	Мускулы осьминога [287—290], каракатица [290], морской гребешок [291]
L-Теанин	$CH_3CH_2HNC(=O)CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	Чайные листья [292, 293]
O-Карбамил-D-серин	$H_2NC(=O)OCH_2CH(NH_2)CO_2H$	Культуральная жидкость *Streptomyces* [294]
L-Азасерин	$N_2CHC(=O)OCH_2CH(NH_2)CO_2H$	Культуральная жидкость *Streptomyces* [295—298]
6-Диазо-5-оксо-L-норлейцин	$N_2CHC(=O)(CH_2)_2CH(NH_2)CO_2H$	Культуральная жидкость *Streptomyces* [299]
ε-Гидроксиламино-L-норлейцин	$HONH(CH_2)_4CH(NH_2)CO_2H$	В микобактине из *Mycobacterium phlei* [300]

Аминокислоты иные, чем альфа

β-Аланин	$H_2NCH_2CH_2CO_2H$	Животные ткани (особенно мышцы и печень) [301], нервная ткань [302], яблоки [303], райграс [304], различные фрукты [305]
γ-Аминомасляная кислота	$H_2NCH_2CH_2CH_2CO_2H$	Свекла (*Beta vulgaris*) [306], яблоки [303], ткань мозга [307—310], райграс [304], экстракт дрожжей [311], клубни картофеля [312], горох [202], томаты (плоды) [313], кокосовые орехи [314]

Продолжение табл. 4

Аминокислоты	Формулы	Источник
β-Аминоизомасляная кислота	$H_2NCH_2CH(CH_3)CO_2H$	Моча человека [315]
β-Лизин	$H_2NCH_2CH_2CH_2CH(NH_2)CH_2CO_2H$	Виомицин [125], стрептотрицин [316], стрептолин [317, 318], розеотрицин [319], геомицины [320]
Розеонин		Розеотрицин из *Streptomyces roseochromogenus* [319, 321]
β-(Тиазолил-2)-β-аланин		Боттромицин из *Streptomyces bottropensis* [160]

Б. В виде составных частей пептидов и белков

1. Аминокислота должна быть выделена из белка или пептида, имеющих вполне определенные характеристики, с помощью по крайней мере двух различных гидролитических методов (кислотного, щелочного, энзиматического).

2. Аминокислота должна быть обнаружена связанной пептидной связью в пептидном фрагменте, выделенном при частичном гидролизе белка или пептида.

3. Будучи выделена, аминокислота должна быть подвергнута тем же испытаниям, что и аминокислоты, найденные в свободном состоянии (*А*, пп. 1—5 включительно).

ЛИТЕРАТУРА

1. Braconnot H., Ann. chim. phys., (2), 13, 113 (1820).
2. Weyl T., Ber., 21, 1407 (1888).
3. Schützenberger P., Ann. chim. phys., (5), 16, 189 (1879).
4. Fischer E., Z. physiol. Chem., 33, 151 (1901).
5. Ehrlich F., Ber., 37, 1809 (1904).
6. Cramer E., J. prakt. Chem., 96, 76 (1865).
7. Schryver S. B., Buston H. W., Proc. Poy. Soc. (London). B, 99, 476 (1925).
8. Gortner R. A., Hoffmann W. F., J. Am. Chem. Soc., 47, 580 (1925).
9. Drechsel E., J. prakt. Chem., 39, 425 (1889).
10. Schryver S. B., Buston H. W., Mukherjee D. H., Proc. Roy. Soc. (London), B, 98, 58 (1925).
11. Hedin S. G., Z. physiol. Chem., 20, 186 (1895); 21, 155, 297 (1895—1896).
12. Ritthausen H., J. prakt. Chem., 103, 233 (1868); 107, 218 (1869).
13. Damodaran M., Biochem. J., 26, 235 (1932).
14. Ritthausen H., J. prakt. Chem., 99, 454 (1866).
15. Damodaran M., Jaaback G., Chibnall A. C., Biochem. J., 26, 1704 (1932).
16. Mörner K. A. H., Z. physiol. Chem., 28, 595 (1899).
17. Mueller J. H., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 19, 161 (1922).
18. Schulze E., Barbieri J., Ber., 14, 1785 (1881).
19. Bopp. F., Ann., 69, 16 (1849).
20. Mörner C. T., Z. physiol. Chem., 88, 138 (1913).
21. Drechsel E., Z. Biol., 33, 96 (1896).
22. Gross J., Pitt-Rivers R., Biochem. J., 53, 645 (1963).
23. Kendall E. C., Trans. Assoc. Am. Physicians, 30, 420 (1915); Collected Papers Mayo Clinic, 7, 395 (1915).
24. Fischer E., Z. physiol. Chem., 33, 151 (1901).
25. Fischer E., Ber., 35, 2660 (1902).
26. Hopkins F. G., Cole S. W., J. physiol (London), 27, 418 (1902); 29, 451 (1903).
27. Kossel A., Z. physiol. Chem., 22, 176 (1896).
28. Hedin S. G., Z. physiol. Chem., 22, 191 (1896).
29. Wada M., Biochem. Z., 257, 1 (1933).
30. Smith D. G., Young E. G., J. Biol. Chem., 217, 845 (1955).
31. Hudson C. S., Advances in Carbohydrate Chem., 3, 1 (1948).
32. Fischer E., Ber., 24, 1836, 2683 (1891).
33. Shriner R. L., Adams R., Marvel C. S., в книге «Organic Chemistry», Vol. 2, edited by H. Gilman, John Wiley and Sons, New York, second edition, 1943, p. 214.

34. Wheland G. W., Advanced Organic Chemistry, John Wiley and Sons, New York, second edition, 1949.
35. Neuberger A., Advances in Protein Chem., 4, 297 (1948).
36. Wohl A., Freudenberg K., Ber., 56, 309 (1923).
37. Vickery H. B., J. Biol. Chem., 169, 237 (1947).
38. Meyer C. E., Rose W. C., J. Biol. Chem., 115, 721 (1936).
39. McCasland G. E., A New General System for the Naming of Stereoisomers. Report of the Advisory Committee on Configurational Nomenclature, American Chemical Society, 1953.
40. Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 77, 3106 (1955).
41. Trommel J., Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. Proc., Ser. B, 56, 272 (1953); 57, 364 (1954).
42. Ställberg-Stenhagen S., Stenhagen E., Arkiv. Kemi., Mineral Geol., B. 24, No 9 (1947).
43. Schulze E., Likiernik A., Z. physiol. Chem., 17, 513 (1893).
44. Vickery H. B., Schmidt C. L. A., Chem. Revs., 9, 169 (1931).
45. Schmidt C. L. A., Ann. Rev. Biochem., 2, 72 (1933).
46. Thudichum J. L. W., Physiological Chemistry of the Brain, Bailiere. London, 1884; Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere, Pietzker, Tübingen, 1901.
47. Abderhalden E., Weil A., Z. physiol. Chem., 81, 207 (1912).
48. Abderhalden E., Weil A., Z. physiol. Chem., 84, 39 (1913).
49. Abderhalden E., Froehlich C., Fuchs D., Z. physiol. Chem., 86, 454 (1913).
50. Abderhalden E., Weil A., Z. physiol. Chem., 88, 272 (1913).
51. Czarnetzky E. J., Schmidt C. L. A., J. Biol. Chem., 97, 333 (1932).
52. Consden R., Gordon A. H., Martin A. J. P., Rosenheim O., Synge R. L. M., Biochem. J., 39, 251 (1945).
53. Dakin H. D., Biochem. J., 12, 290 (1918).
54. Dakin H. D., Biochem. J., 13, 388 (1919).
55. Jones D. B., Johns C. O., J. Biol. Chem., 48, 347 (1921).
56. Dakin H. D., Z. physiol. Chem., 130, 159 (1923).
57. Jones D. B., Wilson R., Cereal Chem., 5, 473 (1928).
58. Rimington C., Biochem. J., 21, 1179, 1187 (1927).
59. Harington C. R., Randall S. S., Biochem. J., 25, 1917 (1931).
60. Gulland J. M., Morris C. J. O. R., J. Chem. Soc., 1934, 1644.
61. Kögl F., Erxleben H., Z. physiol. Chem., 258, 57 (1939); 261, 141, 154 (1939).
62. Abderhalden E., Murke H., Z. physiol. Chem., 247, 227 (1937).
63. Abderhalden E., Pitschak G., Z. physiol. Chem., 265, 31 (1940).
64. Nicolet B. H., Shinn L. A., J. Biol. Chem., 142, 139 (1942); 140, XCVIII (1941).
65. Dakin H. D., J. Biol. Chem., 140, 847 (1941).
66. Bailey K., Chibnall A. C., Rees M. W., Williams E. F., Biochem. J., 37, 360 (1943).
67. Dent C. E., Fowler D. I., Biochem. J., 56, 54 (1954).
68. Fischer E., Abderhalden E., Z. physiol. Chem., 42, 540 (1904).
69. Fischer E., Z. physiol. Chem., 99, 54 (1917).
70. Skraup Z. H., Ber., 37, 1596 (1904); Z. physiol. Chem., 42, 274 (1904).
71. Haworth R. D., MacGillivary R., Peacock D. H., Nature, 167, 1068 (1951).
72. Abderhalden E., Kempe M., Z. physiol. Chem., 52, 207 (1907).
73. Abderhalden E., Sickel H., Z. physiol. Chem., 138, 108 (1924).
74. Schützenberger P., Bourgeois A., Compt. rend., 81, 1191 (1875).

75. Foreman F. W., Biochem. Z., 56, 1 (1913).
76. Van Slyke D. D., Robson W., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 23, 23 (1925).
77. Windsor E., J. Biol. Chem., 192, 595 (1951).
78. Brazier M. A. B., Biochem. J., 24, 1188 (1930).
79. Abderhalden E., Bahn A., Ber., 63, 914 (1930).
80. Abderhalden E., Reich F., Z. physiol. Chem., 193, 198 (1930).
81. Horn M. J., Jones D. B., Ringel S. J., J. Biol. Chem., 144, 87, 93 (1942).
82. Hamilton P. B., Anderson R. A., J. Biol. Chem., 211, 95 (1954).
83. Wieland H., Witkop B., Ann., 543, 171 (1940).
84. Cornforth J. W., Dalgliesh C., Neuberger A., Biochem. J., 48, 598 (1951).
85. Dalgliesh C. E., Knox W. E., Neuberger A., Nature, 168, 20 (1951).
86. Holden J. T., Snell E. E., J. Biol. Chem., 178, 799 (1949).
87. Park J. T., Federation Proc., 9, 213 (1950); J. Biol. Chem., 194, 897 (1952).
88. Bell P. H., Bone J. F., English J. P., Fellows C. E., Howard K. S., Rogers M. M., Shepherd R. G., Winterbottom R., Dormbush A. C., Kushner S., Subba Row Y., Ann. N. Y. Acad. Sci., 51, 897 (1949).
89. Stansly P. G., Brownlee G., Nature, 163, 611 (1949).
90. Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M., Biochem. J., 37, 86 (1943).
91. Synge R. L. M., Biochem J., 38, 285 (1944); 44, 542 (1949).
92. Brockmann H., Grubhofer N., Naturwiss., 36, 376 (1949).
93. Brockmann H., Grubhofer N., Kass W., Kalbe H., Chem. Ber., 84, 260 (1951).
94. Dalgliesh C. E., Johnson A. W., Todd A. R., Vining, L. C., J. Chem. Soc., 1950, 2946.
95. Lipmann F., Hotchkiss R. D., Dubos R., J. Biol. Chem., 141, 163 (1941).
96. Catch J. R., Jones T. S. G., Wilkinson S., Ann. N. Y. Acad. Sci., 51, 917 (1949); Jones T. S. G., Ann. N. Y. Acad. Sci., 51, 909 (1949).
97. Jones T. S. G., Biochem. J., 43, XXVI (1948).
98. Sheehan J. C., Zachau H. G., Lawson W. B., J. Am. Chem. Soc., 80, 3349 (1958).
99. Peterson D. H., Reineke L. M., J. Biol. Chem., 181, 95 (1949).
100. Craig L. C., Gregory J. D., Barry G. T., J. Clin. Invest., 28, 1014 (1949).
101. Synge R. L. M., Biochem. J., 39, 363 (1945).
102. Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M., Biochem. J., 37, 313 (1943).
103. Dunn M. S., Camien M. N., Shankman S., Block H., J. Biol. Chem., 168, 43 (1947).
104. Ivanovics G., Bruckner V., Z. Immunitätsforsch., 90, 304 (1937).
105. Ivanovics G., Bruckner V., Z. Immunitätsforsch., 91, 175 (1937).
106. Smith S., Timmis G. M., J. Chem. Soc., 1937, 396.
107. Stoll A., Hofmann A., Helv. Chim. Acta, 26, 1570 (1943).
108. Wiltshire G. H., Biochem. J., 55, 46 (1953).
109. Virtanen A. I., Berg A. M., Acta Chem. Scand., 9, 553 (1955).
110. Done J., Fowden L., Biochem. J., 49, XX (1951).
111. Done J., Fowden L., Biochem. J., 51, 451 (1952).
112. Fowden L., Done J., Biochem. J., 55, 548 (1953).
113. Zacharius R. M., Pollard J. K., Steward F. C., J. Am. Chem. Soc., 76, 1961 (1954).
114. Virtanen A. I., Hietala P. K., Acta Chem. Scand., 9, 175, 549 (1955).
115. Virtanen A. I., Ettala T., Suomen. Chem., 29B, 107 (1956).
116. Virtanen A. I., Ettala T., Acta Chem. Scand., 11, 182 (1957).
117. Grobbelaar N., Pollard J. K., Steward F. C., Nature, 175, 703 (1955).
118. Blass J., Machebœuf M., Helv. Chim. Acta, 29, 1315 (1946).

119. Boulanger P., Biserte G., Compt. rend., 232, 1451 (1951).
120. Berg A. M., Kari S., Alfthan M., Virtanen A. I., Acta Chem. Scand., 8, 358 (1954).
121. Newton G. G. F., Abraham E. P., Nature, 175, 548 (1955); Biochem J., 62, 651 (1956).
122. Abraham E. P., Newton G. G. F., Biochem. J., 58, 266 (1954); 62, 658 (1956).
123. Virtanen A. I., Berg A. M., Acta Chem. Scand., 8, 1085, 1725 (1954).
124. Virtanen A. I., Uksila E., Matikkala E. J., Acta Chem. Scand., 8, 1091 (1954).
125. Haskell T. H., Fusari S. A., Frohardt R. P., Bartz Q. R., J. Am. Chem. Soc., 74, 599 (1952).
126. Catch J. R., Jones T. S. G., Biochem. J., 42, LII (1948).
127. Symposium on polymixin type of antibiotics, Ann. N. Y. Acad. Sci., 51, 897 (1949).
128. Murray F. J., Tetrault P. A., Proc. Soc. Am. Bacteriologists, 1, 20 (1948).
129. Brownlee G., Bushby S. R. M., Lancet, 254, 127 (1948).
130. Howell S. F., J. Biol. Chem., 186, 863 (1950).
131. Hausmann W., Craig L. C., J. Biol. Chem., 198, 405 (1952).
132. Forsyth W. G. C., Biochem. J., 59, 500 (1955).
133. Jaffe M., Ber., 10, 1925 (1877).
134. Ellinger A., Z. physiol. Chem., 29, 334 (1900).
135. Ackermann D., Mohr M., Z. Biol., 98, 37 (1937—1938).
136. Paladini A., Craig L. C., J. Am. Chem. Soc., 76, 688 (1954).
137. Schwyzer R., Sieber P., Helv. Chim. Acta, 40, 624 (1957).
138. Consden R., Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M., Biochem. J., 40, XLIII (1946).
139. Sanger F., Biochem. J., 40, 261 (1946).
140. Kitagawa M., Tomiyama T., J. Biochem. (Tokyo), 11, 265 (1929).
141. Kitagawa M., Monobe S., J. Biochem. (Tokyo), 18. 333 (1933).
142. Fearon W. R., Bell E. A., Biochem. J., 59, 221 (1955).
143. Linneweh W., Keil A. W., Hoppe-Seyler F. A., Z. physiol. Chem., 183, 11 (1929).
144. Keil W., Z. physiol. Chem., 187, 1 (1930).
145. Searle J. M., Westall R. G., Biochem. J., 48, L (1951).
146. Westall R. G., Biochem. J., 52, 638 (1952).
147. Stein W. H., J. Biol. Chem., 201, 45 (1953).
148. Tallan H. H., Stein W. H., Moore S., J. Biol. Chem., 206, 825 (1954).
149. Imamura H., J. Biochem. (Tokyo), 30, 479 (1939).
150. Kendo K., J. Biochem. (Tokyo), 36, 265 (1942).
151. Ono T., Hirohata R., Z. physiol. Chem., 304, 77 (1956).
152. Work E., Nature, 165, 74 (1950).
153. Work E., Biochem. J., 49, 17 (1951).
154. Asselineau J., Choucroun N., Lederer E., Biochim. et Biophys. Acta, 5, 197 (1950).
155. Gendre T., Lederer E., Biochim. et Biophys. Acta, 8, 49 (1952).
156. Smith H., Strange R. E., Zwartouw H. T., Nature, 178, 865 (1956).
157. Hoare D. S., Work E., Biochem. J., 61, 562 (1955).
158. Woolley D. W., Schaffner G., Braun A. C., J. Biol. Chem., 198, 807 (1952); 215, 485 (1955).
159. Stewart J. M., Woolley D. W., Abstracts of the American Chemical Society Meeting, Atlantic City, 1956.
160. Waisvisz J. M., van der Hoeven M. G., te Nijenhuis B., J. Am. Chem. Soc., 79, 4524 (1957).
161. Giggenheim M., Z. physiol. Chem., 88, 276 (1913).

162. Torquati T., Arch. farmacol. sper., 15. 213, 308 (1913).
163. Miller E. R., J. Biol. Chem., 44, 481 (1920).
164. Damodaran M., Ramaswamy R., Biochem. J., 31, 2149 (1937).
165. Waller C. W., Fryth P. W., Hutchings B. L., Williams J. H., J. Am. Chem. Soc., 75, 2025 (1953).
166. Baker B. R., Joseph J. P., Williams J. H., J. Am. Chem. Soc., 76, 2838 (1954).
167. Udenfriend S., Clark C. T., Titus E., J. Am. Chem. Soc., 75, 501 (1953).
168. Mitoma C., Weissbach H., Udenfriend S., Nature, 175, 994 (1955).
169. Matsuoka Z., Yoshimatsu N., Z. physiol. Chem., 143, 206 (1925).
170. Butenandt A., Weidel W., Weichert R., von Derjugin W., Z. physiol. Chem., 279, 27 (1943).
171. Makino K., Satoh K., Fujiki T., Kawaguchi K., Nature, 170, 977 (1952).
172. Musajo L., Benassi C. A., Parpajola A., Nature, 175, 855 (1955).
173. Renz J., Z. physiol. Chem., 244, 153 (1936).
174. Mascre M., Compt. rend., 204. 890 (1937).
175. Adams R., Johnson J. L., J. Am. Chem. Soc., 71, 705 (1949).
176. Wieland T., Schön W., Ann., 593, 157 (1955).
177. Fowden T., Nature, 176, 347 (1955).
178. Virtanen A. I., Nature, 176, 984 (1955).
179. Virtanen A. I., Angew. Chem. 67, 619 (1955).
180. Fowden L., Biochem. J., 64, 323 (1956).
181. Hulme A. C., Arthington W., Nature, 173, 588 (1954).
182. Wieland T., Schmidt G., Ann., 577, 213 (1952).
183. Radhakrishnan A. N., Giri K. V., Biochem. J., 58, 57 (1954).
184. Hulme A. C., Nature, 174, 1055 (1954).
185. Urbach G., Nature, 175, 170 (1955).
186. Hulme A. C., Steward F. C., Nature, 175, 171 (1955).
187. Hulme A. C., Arthington W., Nature, 170, 659 (1952).
188. Zacharius R. M., Thompson J. F., Steward F. C., J. Am. Chem. Soc., 74, 2949 (1952); 76, 2908 (1954).
189. Morrison R. I., Biochem. J., 53, 474 (1953).
190. Schweet R. S., Holden J. T., Lowy P. H., J. Biol. Chem., 211, 517 (1954).
191. Virtanen A. I., Kari S., Acta Chem. Scand., 9, 170 (1955).
192. Witkop B., Foltz C. M., J. Am. Chem. Soc., 79. 192 (1957).
193. Virtanen A. I., Kari S., Acta Chem. Scand., 8, 1290 (1954).
194. King F. E., King T. J., Warwick A. J., J. Chem. Soc., 1950, 3590.
195. Jahns E., Ber., 24, 2615 (1891).
196. Hess K., Leibbrandt F., Ber., 51, 806 (1918); Freudenberg K., Ber., 51, 976, 1669 (1918).
197. Minagawa T., Proc. Imp. Acad. (Tokyo), 21, 33 (1945).
198. Minagawa T., Proc. Japan Acad., 22, 130 (1946).
199. Craig L. C., Shedlovsky T., Gould R. G., Jacobs W. A., J. Biol. Chem., 125, 289 (1958).
200. Flynn E. H., Hinman J. W., Caron E. L., Woolf D. O., J. Am. Chem. Soc., 75, 5867 (1953).
201. Fling M., Horowitz N. H., J. Biol. Chem., 190, 277 (1951).
202. Virtanen A. I., Miettinen J. K., Biochim. et Biophys. Acta, 12, 181 (1953).
203. Bakhuis J. A., Nature, 180, 713 (1957).
204. Miettinen J. K., Kari S., Moisio T., Alfthan M., Virtanen A. I., Suomen Kemistilehti, B26, 26 (1953).
205. Ackermann W. W., Kirby H., J. Biol. Chem., 175, 483 (1948).

206. Thompson J. F. Morris C. J., Zacharius R. M., Nature, 178, 593 (1956).
207. Ragland J. B., Liverman J. L., Arch. Biochem. Biophys., 65. 574 (1956).
208. Rinderknecht H., Chem. & Ind (London), 1957, 1384.
209. Synge R. L. M., Wood J. C., Biochem. J., 60, XV (1955).
210. Synge R. L. M., Wood J. C., Biochem J., 64, 252 (1956).
211. Morris C. J., Thompson J. F., Chem. & Ind. (London), 1955, 951.
212. Morris C. J., Thompson J. F., J. Am. Chem. Soc., 78, 1605 (1956).
213. Bergeret B., Chatagner F., Biochim. et. Biophys. Acta, 14, 297, 543 (1954).
214. Martin A. J. P., Synge R. L. M., Advances in Protein Chem., 2, 1 (1945).
215. Horowitz N. H., J. Biol. Chem., 171, 255 (1947).
216. Biserte G., Bull. soc. chim. biol., 39, 549 (1957).
217. Dent C. E., Biochem J., 41, 240 (1947).
218. Challenger F., Hayward B. J., Biochem. J., 58 (1954).
219. McRorie R. A., Sutherland G. L., Lewis M. S., Barton A. D., Glazener M. R., Shive W., J. Am. Chem. Soc., 76, 115 (1954).
220. van Veen A. G., Hijman A. J., Rec. trav. chim., 54, 493 (1935).
221. Hijman A. J., van Veen A. G., Geneesk. Tijdschr., Ned- Indië, 76, 840 (1936); цит. по Chem. Abstr., 30, 4880 (1936).
222. du Vigneaud V., Patterson W. I., J. Biol. Chem., 114, 533 (1936).
223. Armstrong M. D., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 173, 749 (1948).
224. Ägren G., Eklund S., Acta Chem. Scand., 6, 1129 (1952).
225. Alderton G., Fevold H. L., J. Am. Chem. Soc., 73, 463 (1951).
226. Berridge N. J., Newton G. G. F., Abraham E. P., Biochem J., 52, 529 (1952).
227. Benedict R. G., Dvonch W., Shotwell O. L., Pridham T. G., Lindenfelser L. A.. Antibiotics & Chemotherapy, 2, 591 (1952).
228. Stein J. M., Chem. & Ind. (London), 1955, 774.
229. Funatsu M., Kikutani M., J. Agr. Chem. Soc., Japan, 30, 572 (1956).
230. Hewton G. G. F., Abraham E. P., Nature, 171, 606 (1953).
231. Alderton G., J. Am. Chem., Soc., 75, 2391 (1953); см. также Downey P. F., Black S., J. Biol. Chem., 228, 171 (1957).
232. Horne M. J., Jones D. B., J. Biol. Chem., 139, 649 (1941).
233. Hope D. B., Biochem. J.. 66, 486 (1957).
234. Clarke H. T., ed., The Chemistry of Penicillin, Princeton University Press. Princeton, 1949.
235. Stoll A., Seebeck E., Helv. Chim. Acta, 31, 189 (1948); 32, 197 (1949); 34, 481 (1951).
236. Westall R. G., Biochem. J. 55, 244 (1953).
237. Kossel A., Edlbacher S., Z. physiol. Chem., 94, 264 (1915).
238. Horner W. H., Mackenzie C. G., J. Biol. Chem., 187, 15 (1950).
239. Linko P., Alfthan M., Miettinen J. K., Virtanen A. I., Acta Chem. Scand., 7, 1310 (1955).
240. Brockmann H., Angew. Chem., 66, 1 (1954).
241. Brockmann H., Bohnsack G., Gröne H., Naturwiss., 40, 223 (1953).
242. Bricas E., Fromageot C., Advances in Protein Chem., 8, 1 (1953).
243. Plattner P. A., Nager U., Helv. Chim. Acta, 31, 2192 (1948).
244. Plattner P. A., Nager U., Helv. Chim. Acta, 31, 2203 (1948).
245. См. ранние работы: Johnson T. B., Nicolet B. H., Am. Chem. J., 47, 459 (1912).
246. Winterstein E., Z. physiol. Chem., 105, 20 (1919).
247. Hoshino T., Ann., 520, 51 (1935).
248. Cahill W. M., Jackson R. W., J. Biol. Chem., 126, 29 (1938).
249. Yoshida T., Fukuyama S., J. Biochem. (Tokyo), 34, 429 (1941); 36, 349 (1944)

250. Goodson J. A., Clewer H. W. B., J. Chem. Soc., 115, 923 (1919).
251. Husemann A., Marmé W., Ann. Suppl. Bd. III, 245 (1964).
252. Scheibler C., Ber., 2, 292 (1969).
253. Scheibler C., Ber., 3, 155 (1870).
254. Guggenheim M., Die biogenen Amine, S. Karger, Basel, 1951.
255. Ackermann D., Z. Biol., 59, 433 (1912).
256. Ackermann D., Z. Biol., 61, 373 (1913).
257. Engeland R., Biehler W., Z. physiol. Chem., 123, 290 (1922).
258. von Planta A., Schulze E., Ber., 26, 939 (1893).
259. Schulze E., Trier G., Z. physiol. Chem., 67, 59 (1910).
260. Steenbock H., J. Biol. Chem., 35, 1 (1918).
261. Kutscher F., Ackermann D., Z. Physiol. Chem., 221, 33 (1933).
262. Patchett A. A., Witkop B., J. Am. Chem. Soc., 79. 185 (1957).
263. Kung A., Trier G., Z. physiol. Chem., 85, 209 (1913).
264. Ackermann D., Appel W., Z. physiol. Chem., 262, 103 (1939).
265. Greshoff M., Mededeel. uits Lands Plantentium, 7, 29 (1890); цит. по работе [266].
266. van Romburgh P., Barger G., J. Chem. Soc., 99, 2068 (1911).
267. Marañon J., Santos J. K., Philippine J. Sci., 48, 563 (1932).
268. Kutscher F., Zentr. Physiol., 24, 775 (1910).
269. Reuter C., Z. physiol. Chem., 78, 167 (1912).
270. Tanret M. C., Compt. rend., 149, 222 (1909).
271. Benedict S. R., Newton E. B., Behre J. A., J. Biol. Chem., 67, 267 (1926).
272. Newton E. B., Benedict S. R., Dakin H. D., J. Biol. Chem., 72, 367 (1927).
273. Melville D. B., Horner W. H., Lubschez R., J. Biol. Chem., 206, 221 (1954).
274. Dent C. E., Science, 105, 335 (1947).
275. Dent C. E., Stepka W., Steward F. C, Nature, 160, 682 (1947).
276. Waley S. G., Biochem, J., 64, 715 (1956).
277. Walker D. M., Biochem. J., 52, 679 (1952).
278. Vahatalo M. L., Virtanen A. I., Acta Chem. Scand., 11, 741 (1957).
279. Burroughs L. F., Nature, 179, 360 (1957).
280. Koga Y., Odake S., J. Tokyo Chem. Soc., 35, 519 (1914).
281. Wada M., Biochem. Z., 224, 420 (1930).
282. Miettinen J. K., Virtanen A. I., Physiol. Plantarum., 5, 540 (1952).
283. Wolffgang H., Mothes K., Naturwiss., 40, 606 (1953).
284. Kolousek J., Coulsen C. B., J. Sci. Food. Agr., 6, 380, 386 (1955).
285. Meyerhof O., Lohmann K., Biochem. Z., 196, 49 (1928).
286. Ennor A. H., Morrison J. F., Rosenberg H., Biochem. J., 62, 358 (1956).
287. Izumiya N., Wade R., Winitz M., Otey M. C., Birnbaum S. M. Koegel R. J., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 652 (1957).
288. Morizawa K., Acta Schol. Med. Univ. Imp. Kioto, 9, 295 (1927).
289. Akasi S., J. Biochem. (Tokyo), 25, 261, 281, 291 (1937).
290. Irvine J. L., Wilson D. W., J. Biol. Chem., 127, 565 (1939).
291. Moore E., Wilson D. W., J. Biol. Chem., 119, 573, 585 (1937).
292. Sakato Y., J. Agr. Chem. Soc., Japan, 23, 262 (1950).
293. Cartwright R. A., Roberts E. A. H., Wood D. J., J. Sci. Food Agr., 5, 597 (1954).
294. Hagemann G., Penasse L., Teillon J.. Biochim et Biophys. Acta, 17, 240 (1955).

295. Fusari S. A., Frohardt R. P., Ryder A., Haskell T. H., Johannessen D. W., Elder C. C., Bartz Q. R., J. Am. Chem. Soc., 76, 2878 (1954).
296. Fusari S. A., Haskell T. H., Frohardt R. P., Bartz Q. R., J. Am. Chem. Soc., 76, 2881 (1954).
297. Stock C. C., Reilly H. C., Buckley S. M., Clarke D. A., Rhoads C. P., Nature, 173, 71 (1954).
298. Bartz Q. R., Elder C. C., Frohardt R. P., Fusari S. A., Haskell T. H., Johannessen D. W., Ryder A., Nature, 173, 72 (1954).
299. Dion H. W., Fusari S. A., Jakubowski Z. L., Zora J. G., Bartz Q. R., J. Am. Chem. Soc., 78, 3075 (1956).
300. Snow G. A., J. Chem. Soc., 1954, 2588, 4080.
301. Schenck J. R., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 54, 6 (1943).
302. Roberts E., Frankel S., Harman P. J., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 74, 383 (1950).
303. Hulme A. C., Arthington W., Nature, 165, 716 (1950).
304. Synge R. L. M., Biochem. J., 48, 429 (1951).
305. Joslyn M. A., Stepka W., Food Research, 14, 459 (1949).
306. Westall R. G., Nature, 165, 717 (1950).
307. Udenfriend S., J. Biol. Chem., 187, 65 (1950).
308. Roberts E., Frankel S., J. Biol. Chem., 187, 55 (1950).
309. Awapara J., Landua A. J., Fuerst R., Seale B., J. Biol. Chem., 187, 35 (1950).
310. Roberts E., Borges P. R. F., Cancer Research, 15, 697 (1955).
311. Reed L. J., J. Biol. Chem., 183, 451 (1950).
312. Thompson J. F., Pollard J. K., Steward F. C., Plant Physiol., 28, 401 (1953).
313. Shinano S., Kaya T., Kaneko H., J. Agr. Chem. Soc., Japan, 30, 175 (1956).
314. Baptist N. G., Nature, 178, 1403 (1956).
315. Crumpler H. R., Dent C. E., Harris H., Westall R. G., Nature, 167, 307 (1951).
316. Carter H. E., Hearn W. R., Lansford E. M., Page A. C., Salzman N. P., Shapiro D., Taylor W. R., J. Am. Chem. Soc., 74, 3704 (1954).
317. van Tamelen E. E., Smissmann E. E., J. Am. Chem. Soc., 74, 3713 (1952)
318. Smissman E. E., Sharpe W. R., Aycock B. F., van Tamelen E. E., Peterson W. H., J. Am. Chem. Soc., 75, 2029 (1953).
319. Nakanishi K., Ito T., Hirata Y., J. Am. Chem. Soc., 76, 2845 (1954).
320. Brockmann H., Musso H., Chem. Ber., 88, 648 (1955).
321. Nakanishi K., Ito T., Ohashi M., Morimoto I., Hirata Y., Bull. Chem. Soc., Japan, 27, 539 (1954).

ГЛАВА 2

СИНТЕЗ α-АМИНОКИСЛОТ

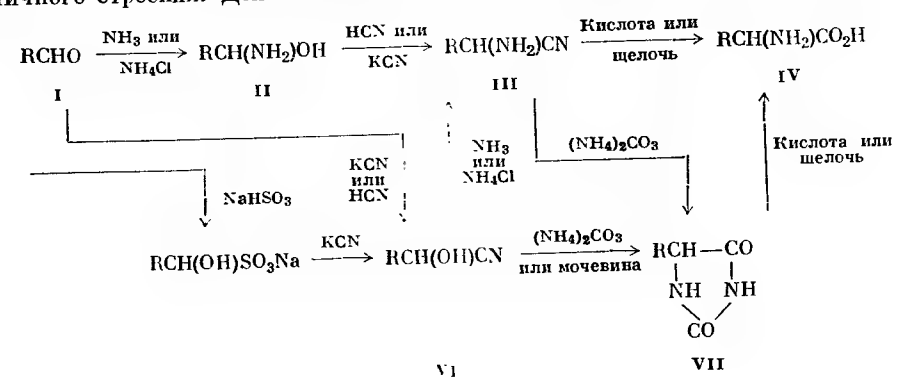
1. Введение. За последние годы потребность в значительных количествах α-аминокислот неуклонно возрастает в связи с широким использованием их в биохимии, питании, микробиологии и при исследовании растительных и животных тканей. Кроме того, аминокислоты нашли широкое применение в качестве добавок к природным и переработанным продуктам питания. В прошлом потребность в большинстве α-аминокислот могла быть удовлетворена путем их выделения из кислотных, щелочных и энзиматических гидролизатов белков или из других природных источников. Фактически эти методы и до настоящего времени применяют в промышленности при производстве аргинина, аспарагина, цистина, глутаминовой кислоты, гистидина, оксипролина, пролина и тирозина. Однако сейчас эти методы не представляют собой лучшего пути получения большинства аминокислот, входящих в состав белков. В настоящее время существует целый ряд удобных синтетических методов, позволяющих легко получить аланин, аспарагиновую кислоту, глицин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, серин, треонин, триптофан и валин, а также многие другие α-аминокислоты, причем как в лабораторном, так и в промышленном масштабах. Наиболее существенные из этих синтетических методов будут подробно рассмотрены в данной главе.

Выбор конкретного метода получения аминокислоты часто определяется в зависимости от того: а) требуется ли получить аминокислоту в промышленном масштабе для технических целей, б) связан ли синтез с необходимостью получения в лабораторных условиях новой или дефицитной аминокислоты и в) требуется ли получить меченую аминокислоту для проведения исследований с мечеными соединениями. В технике, где исследователи стремятся к снижению себестоимости продукции, использование, например, реакций, протекающих при высокой температуре и давлении, часто дает возможность применять относительно дешевые исходные продукты и заметно сокращать время, необходимое для проведения реакции. До тех пор пока использование таких реакций в лабораторных условиях будет наталкиваться на значительные трудности, стоимость реактивов всегда будет иметь гораздо меньшее значение по сравнению с временем, затраченным исследователем, и выбор пути синтеза новой или дефицитной аминокислоты, как правило, будет определяться его удобством и экономией времени, а не исходного сырья. С другой стороны, если синтез предусматривает введение в молекулу аминокислоты дорогостоящего изотопа, то избранная последовательность реакций не обязательно должна приводить к максимально высокому общему выходу, но должна обеспечивать наиболее высокий выход,

считая на изотопное сырье; в этих случаях выбирают такой путь синтеза, который позволяет вводить изотоп на возможно более поздней стадии. Во всяком случае, необходимо помнить, что способ получения соответствующей аминокислоты обычно должен выбираться с учетом намеченной цели.

Синтетические методы, излагаемые в дальнейшем, можно считать общими лишь в том случае, если необходимые для синтеза исходные вещества являются доступными, а условия реакций и техника эксперимента на каждой стадии синтеза являются однотипными для всех аминокислот. Однако это оказывается возможным далеко не всегда, поскольку боковые цепи аминокислот могут обладать самым разнообразным строением, а отсюда синтез данной аминокислоты может потребовать значительных усилий. В частности, наличие реакционноспособных боковых цепей лизина, гистидина и аргинина накладывает специфику на синтез этих аминокислот. Дополнительные трудности могут возникнуть из-за: а) необходимости защиты некоторых других реакционноспособных функциональных групп, например гидроксильной группы; б) увеличения продолжительности реакции в случае пространственно экранированных производных, имеющих разветвленные боковые цепи; в) повышенной чувствительности ряда аминокислот или промежуточных соединений к кислотам или щелочам, а также г) различной растворимости, которой обладают разные аминокислоты. Таким образом, становится очевидным, что при синтезе соответствующей аминокислоты одним из общепринятых методов может встретиться необходимость решения многих специальных вопросов. Принимая это во внимание, в третьем томе монографии [93] подробно рассматриваются пути синтеза каждой аминокислоты, входящей в состав белков, а также и некоторых других аминокислот. В данной же главе обсуждаются главным образом лишь те предпосылки, которые легли в основу синтезов аминокислот, имеющих более общий характер.

2. Синтез Штрекера. Попытка Штрекера [1] в 1850 г. получить молочную кислоту путем кислотного гидролиза аминонитрила (III; R = CH_3), образующегося в качестве промежуточного соединения при взаимодействии ацетальдегида (I; R = CH_3) с аммиаком, а затем с синильной кислотой, неожиданно привела к получению аланина (IV; R = CH_3). Этот непредвиденный синтез аланина имел очень большое значение не только потому, что явился первым сообщением о получении α-аминокислоты, но также и потому, что впервые был показан общий путь синтеза α-аминокислот самого различного строения. Действительно, на основе открытой Штрекером реакции



было разработано несколько препаративных методов синтеза, дающих возможность превратить альдегид (I) в соответствующую α-аминокислоту (IV), содержащую на один атом углерода больше, чем в исходном соединении. Этот путь синтеза представлен на приведенной выше схеме, где R обозначает боковую цепь синтезированной аминокислоты. Введение этого метода сделало возможным получение различных α-аминокислот, о чем свидетельствует его использование как в первоначальном виде, так и с соответствующими изменениями для осуществления первых удачных синтезов изолейцина [2], лейцина [3], метионина [4], фенилаланина [5] и серина [6].

Метод Штрекера подвергался многократным модификациям, направленным, с одной стороны, на повышение относительно низких выходов, получающихся по оригинальной методике, а с другой стороны, на устранение технических трудностей, связанных с применением крайне токсичного цианистого водорода. В этом отношении заслуживают внимания исследования Зелинского и Стадникова [7], Коккера и Лэпуорса [8], Бюхерера с сотрудниками [9, 10], а также Годри [11]. Методические усовершенствования, внесенные этими и другими исследователями, заключались, например, в определении наиболее благоприятных соотношений цианида и аммиака при превращении альдегида (I) в промежуточный аминонитрил (III), а также в применении в данной реакции цианидов щелочных металлов и хлористого аммония вместо цианистого водорода и аммиака. Промежуточный аминонитрил (III), вообще говоря, может быть получен либо а) путем реакции соответствующего альдегида с аммиаком (или хлористым аммонием), приводящей к образованию альдегидаммиачного комплекса (II), и обработкой последнего цианистым водородом или щелочным цианидом; либо б) действием аммиака или хлористого аммония на циангидрин (VI), образующийся при взаимодействии альдегида (I) с цианидом; если перед обработкой цианидом альдегид превратить в бисульфитное производное (V), то реакция обычно протекает с более высоким выходом [9—11]. Превращение аминонитрила (III) в соответствующую аминокислоту (IV) может быть осуществлено как кислотным, так и щелочным гидролизом, однако в большинстве случаев предпочитают первый из этих способов (типичная методика приведена в книге [93], гл. 21). Применение в этом методе цианидов, меченных C^{13} и C^{14}, оказалось очень ценным для синтеза аминокислот, меченных по карбоксильной группе.

Интересная модификация метода Штрекера была описана в 1889 г. Пиннером и Шпилкером [14], которые при взаимодействии соответствующего циангидрина (VI) с мочевиной с последующей обработкой реакционной смеси соляной кислотой получили 5-алкилгидантоин (VII). Щелочной гидролиз соединения (VII) привел к образованию соответствующей аминокислоты (IV). Однако этот метод не нашел применения в качестве общего метода получения аминокислот до тех пор, пока Бюхерер с сотрудниками [9, 10] в 1934 г. не показали, что 5-замещенные гидантоины (VII) легко образуются с хорошим выходом при нагревании α-аминонитрилов (III) или циангидринов (VI) с углекислым аммонием. Поскольку гидантоиновый цикл, как правило, устойчив к действию кислот, для превращения 5-алкилгидантоина (VII) в α-аминокислоту предпочитают применять щелочной гидролиз. Распространение этого метода на синтез самых разнообразных α-аминокислот стало возможным лишь в 40-х годах, после того как стали доступными исходные альдегиды. Поскольку вариант метода Штрекера, предложенный Бюхерером, оказался более экономичным в отношении затраты времени, труда и реактивов, то он стал одним из главных синтетических способов, исполь-

зуемых до настоящего времени в промышленности для производства α-аминокислот.

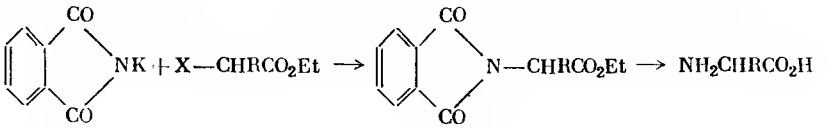
3. Аминирование α-галогенкислот. В 1858 г. Каурс [15] путем реакции хлоруксусной кислоты со спиртовым раствором аммиака осуществил первый синтез глицина. Дальнейшее изучение этой и аналогичных реакций другими исследователями показало, что взаимодействие водного, спиртового или жидкого аммиака с соответствующими α-хлор или α-бромкарбоновыми кислотами (VIII; X = Cl или Br) может служить общим методом синтеза α-аминокислот (IV).

$$\underset{\text{VIII}}{X{-}CHRCO_2H} \xrightarrow{NH_3} \underset{\text{IV}}{NH_2{-}CHRCO_2H}\ [+\underset{\text{IX}}{NH(CHRCO_2H)_2} + \underset{\text{X}}{N(CHRCO_2H)_3}]$$

Выход аминокислоты, полученной этим методом, зависит, как правило, от взятого молярного соотношения аммиака и α-галоидозамещенной кислоты [16, 17], причем применение меньших количеств аммиака приводит к снижению выхода, а в случае низших α-галогенкислот — к образованию значительных количеств соответствующих вторичных и третичных оснований (IX и X) [18, 19]. В обстоятельных исследованиях Чирониса и Шпитцмюллера [20] показано, что аммонолиз лучше всего протекает при температуре 40—60° в водных растворах, содержащих 10—12 молей аммиака и 4—5 молей карбоната аммония на 1 моль галогенкислоты (типичные методики см. в книге [93], гл. 21 и 46). Скорость аммонолиза существенно зависит от степени стерического экранирования, обусловленного боковой цепью исходной α-галогенкислоты; доказательством этого служит тот факт, что аммонолиз α-бромуксусной кислоты при ее обработке 4 молями карбоната аммония при 60° в течение 1 *мин* проходит на 80%, тогда как в случае пространственно более экранированной α-бромизовалериановой кислоты для получения того же выхода в аналогичных условиях необходимо около 18 *час*. Кроме того, установлено, что время, в течение которого аммонолиз α-хлорпропионовой кислоты проходит на 80%, примерно в 26 раз больше времени, требующегося для аналогичного превращения α-бромпропионовой кислоты, что связано со значительно большей реакционной способностью α-бромзамещенных кислот в сравнении с их α-хлораналогами. Во всяком случае, поскольку этот метод весьма удобен и приводит к удовлетворительному выходу продукта реакции, аммонолиз α-галогенкислот является широко используемым методом синтеза α-аминокислот; если необходимые для синтеза α-галогенкислоты не имеются в готовом виде, то они могут быть легко получены обычными методами, например бромированием соответствующего производного малонового эфира или с помощью реакции Гелля — Фольгарда — Зелинского (типичная методика приведена в книге [93], гл. 21).

Замещение атома галогена в α-галогенкислоте на аминогруппу может быть с успехом осуществлено не только действием аммиака, но также с помощью других реагентов. В этом отношении особенно плодотворными оказались методы, основанные на конденсации фталимидкалия (XI) с эфирами α-галогенкислот (XII; X = Cl или Br); реакцию обычно проводят нагреванием реагентов в отсутствие растворителя [21] или при более низкой температуре с применением диметилформамида в качестве растворителя [22]. Образующийся при этом эфир фталиламинокислоты (XIII) может быть превращен с хорошим выходом в соответствующую аминокислоту (IV) путем удаления защитных групп кислотным гидролизом в жестких условиях [21], двухступенчатым щелочным, а затем кислотным гидролизом [21] или обра-

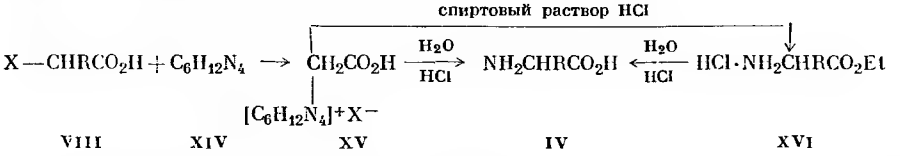
боткой гидразином с последующим кислотным гидролизом [22, 23].



XI XII XIII IV

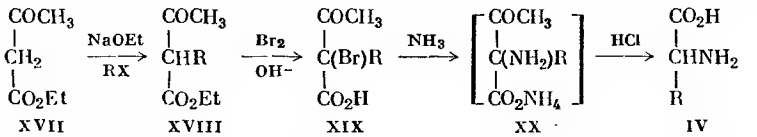
Поскольку фталимидный метод применим для введения аминогруппы не только в α-, но и в ω-положение, он широко используется для получения различных α,ω-диаминокислот. Кроме того, этот способ особенно ценен для получения N^{15}-меченых аминокислот из легко доступного фталимида калия, меченного изотопом N^{15}.

Хорошие результаты получены также при замещении α-галогенного атома на α-аминогруппу с помощью гексаметилентетрамина (XIV) [24]. Действие этого реагента на α-хлор- и α-бромзамещенные кислоты (VIII; X = Br или Cl) в кипящем диоксане или в смеси диоксана с ксилолом приводит к дегалоидированию соединения VIII с одновременным образованием комплекса XV. Последний при обработке соляной кислотой дает свободную аминокислоту (IV). Иногда можно получить лучший выход аминокислоты (IV), если продукт присоединения (XV) сначала превратить в хлоргидрат этилового эфира соответствующей аминокислоты (XVI) действием HCl в этаноле и затем подвергнуть кислотному гидролизу. Метод не требует большой затраты времени, экономичен и обычно приводит к хорошему выходу соответствующей аминокислоты.



VIII XIV XV IV XVI

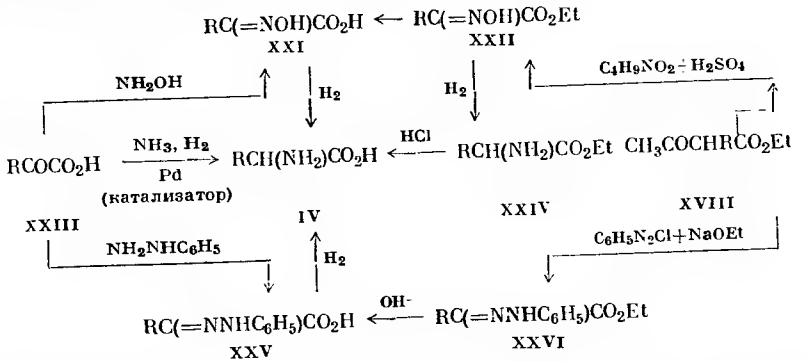
Аммонолиз 2-галоген-2-алкилацетоуксусных кислот (XIX), аналогично α-галогенкислотам, приводит к образованию α-аминокислот [25]. Так, при действии галогенного алкила на ацетоуксусный эфир (XVII) получают эфир 2-алкилацетоуксусной кислоты (XVIII), который обработкой бромом в воднощелочном растворе при 0—5° переводят в соответствующий 2-бром-2-алкилацетоуксусный эфир (XIX); последний под действием жидкого аммиака превращается, по всей вероятности, в соединение XX, которое без выделения гидролизуют кислотой до соответствующей аминокислоты (IV).



XVII XVIII XIX XX IV

4. Восстановительное аминирование. Методы, основанные на каталитическом или химическом восстановлении α-оксиминопроизводных (XXI) или фенилгидразонов (XXV) до соответствующих α-аминокислот, были развиты в общие препаративные методы благодаря ранним исследованиям Эрленмейера [26], Буво и Локкена [27], Фишера и Гро [28], а также более поздним работам Хартунга с сотрудниками [29, 30] и Феофилактова с сотрудниками [31]. Исходный оксим (XXI) или фенилгидразон (XXV) могут быть

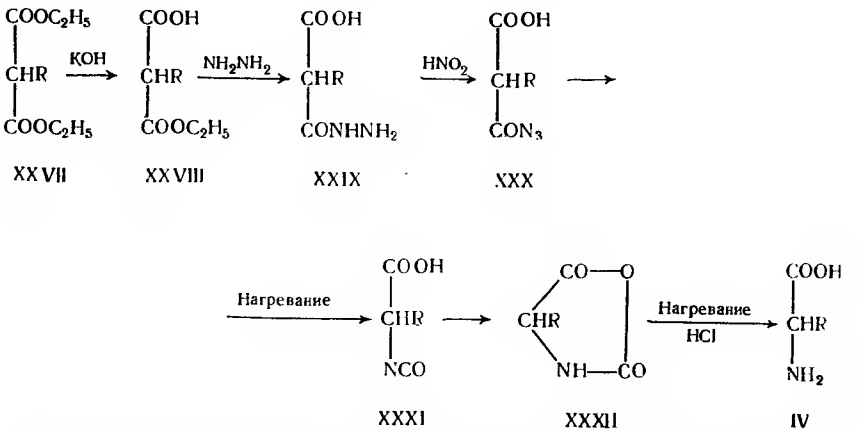
получены действием избытка гидроксиламина или фенилгидразина соответственно на α-кетокислоту (XXIII). Однако ввиду относительно малой доступности целого ряда α-кетокислот соответствующие оксимы (XXI) лучше всего получать обработкой 2-алкил- или 2-арил-замещенных ацетоуксусных эфиров (XVIII) бутилнитритом в растворе серной кислоты с последующим омылением образовавшегося α-оксиминоэфира (XXII); в свою очередь фенилгидразоны (XXV) легко получаются при действии хлористого фенилдиазония на эфир (XVIII) в присутствии этилата натрия в качестве катализатора с последующим омылением промежуточно образующегося эфира (XXVI). Восстановление оксима (XXI) или фенилгидразона (XXV) в соответствующую аминокислоту (IV) может быть осуществлено действием таких химических восстановителей, как олово и соляная кислота, цинк и уксусная кислота, амальгама натрия или амальгама алюминия, хотя каталитическое восстановление с применением палладия, окиси платины или никеля Ренея обычно приводит к лучшим выходам; с другой стороны, соединение XXII можно сначала каталитически восстановить в эфир соответствующей аминокислоты XXIV, а затем последний кислотным гидролизом превратить в IV (типичная методика приведена в книге [93], гл. 42). Хотя в прошлом методы восстановительного аминирования с участием оксимов и фенилгидразонов широко использовались для синтеза α-аминокислот и применялись в первых синтезах глутаминовой кислоты [32] и лизина [33], в настоящее время они постепенно выходят из употребления, уступая место непрерывно развивающимся более простым методам.



Интересная модификация указанных методов, заключающаяся в каталитическом гидрировании смеси α-кетокислоты (XXIII) с аммиаком с образованием соответствующей α-аминокислоты, была предложена Кнопом и Эстерлином [34]. По-видимому, эта реакция протекает через неустойчивую иминокислоту $RC(=NH)CO_2H$, которая затем восстанавливается до соответствующей аминокислоты. Хотя этот метод вряд ли пригоден для препаративного получения α-аминокислот, он является весьма полезным для синтеза N^{15}-меченых аминокислот с помощью легкодоступного N^{15}-меченого аммиака [35].

5. Аминирование путем молекулярной перегруппировки. Хорошо известная перегруппировка азидов кислот в изоцианаты, сопровождаемая элиминированием азота, открыта Курциусом в 1890 г. (ср. с работой [36]). Использование этой реакции для получения α-аминокислот описано Курциусом и Зибером [37] в 1921 г. и спустя девять лет этот метод был детально

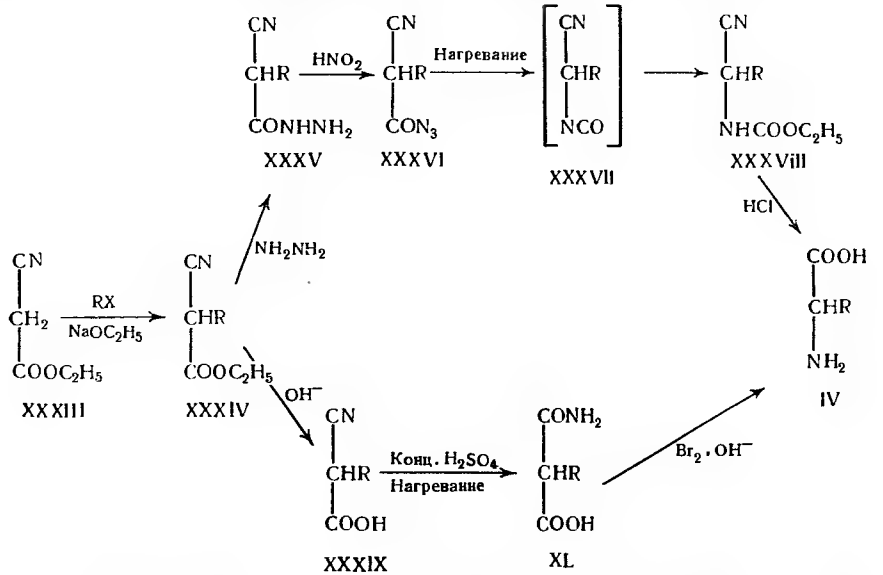
разработан Курциусом [38, 39]. Использованный путь синтеза изображен на схеме:



Указанные превращения по существу представляют собой перегруппировку азида алкил- или арилмалоновой кислоты (XXX) при нагревании в эфирном или хлороформном растворе в соответствующий изоцианат (XXXI), легко циклизующийся в N-карбоксиангидрид (XXXII); последний после гидролиза превращается в соответствующую аминокислоту (IV). Промежуточный азид (XXX), являющийся ключевым соединением в указанном методе, получают действием азотистой кислотой на моногидразид соответствующей малоновой кислоты (XXIX), который в свою очередь образуется при обработке моноэфира малоновой кислоты (XXVIII) гидразином. Поскольку получение исходного полуэфира (XXVIII) из соответственно замещенного малонового эфира (XXVII) само по себе представляет значительные трудности, становится очевидным, что такой трудоемкий метод в его настоящем виде не может быть использован для препаративного синтеза α-аминокислот. Тем не менее принципиальная схема синтеза заслуживает внимания, поскольку в ней отражена основная идея, позднее использованная в значительно более перспективном методе Дарапского.

Применение замещенных цианауксусных эфиров (XXXIV) вместо соответствующих малоновых эфиров (XXVII) позволило в 1936 г. Дарапскому с сотрудниками [40] предложить аналогичный, но более удобный путь синтеза аминокислот, чем описанный Курциусом с сотрудниками. Согласно этому методу, алкилцианауксусный эфир (XXXIV) (легко получающийся при конденсации цианауксусного эфира (XXXIII) с галогенным алкилом в присутствии этилата натрия в качестве катализатора) под действием гидразина в этанольном растворе превращается в соответствующий моногидразид XXXV, аналогичный XXIX. Путем взаимодействия моногидразида XXXV с азотистой кислотой получают азид XXXVI, который при нагревании перегруппировывается по Курциусу в соответствующий уретан (XXXVIII), по всей вероятности, через промежуточно образующийся неустойчивый изоцианат (XXXVII). При последующем кислотном гидролизе уретана (XXXVIII) получают соответствующую аминокислоту (IV) (типичная методика приведена в книге [93], гл. 42). О широких возможностях метода Дарапского можно судить на основании того, что, пользуясь этим методом, Годри, Ганьон и их сотрудники [41] синтезировали наряду с неко-

торыми специфическими аминокислотами также все аминокислоты, входящие в состав белков ([43], гл. 42).



Аналогичный метод, основанный на использовании реакции Гофмана (ср. с работой [43]) вместо перегруппировки Курциуса, был предложен Хуаном, Лином и Ли [42]. Так, при омылении соответствующего алкилциануксусного эфира (XXXIV) была получена моноалкилциануксусная кислота (XXXIX), которая путем обработки горячей концентрированной серной кислотой была превращена в моноамид соответствующей малоновой кислоты (XL). При действии брома на щелочной раствор амида (XL) последний претерпевал перегруппировку Гофмана с образованием аминокислоты (IV) (типичная методика приведена в книге [93], гл. 47).

Реакция Шмидта, заключающаяся во взаимодействии карбонилсодержащих соединений с азотистоводородной кислотой в растворе минеральной кислоты с образованием соответствующих продуктов перегруппировки, по своей природе аналогична реакциям Курциуса и Бекмана (ср. с работой [44]). Если исходным карбонилсодержащим соединением является карбоновая кислота (XLI), то в результате реакции происходит замена карбоксильной группы на аминогруппу (XLIII) с элиминированием двуокиси углерода; напротив, в случае кетонов (XLVI) должен получаться соответствующий амид (XLVII), как это показано на схеме:

$$\underset{\text{XLI}}{RCO_2H} + \underset{\text{XLII}}{HN_3} \xrightarrow{H_2SO_4} \underset{\text{XLIII}}{RNH_2} + \underset{\text{XLIV}}{CO_2} + \underset{\text{XLV}}{N_2}$$

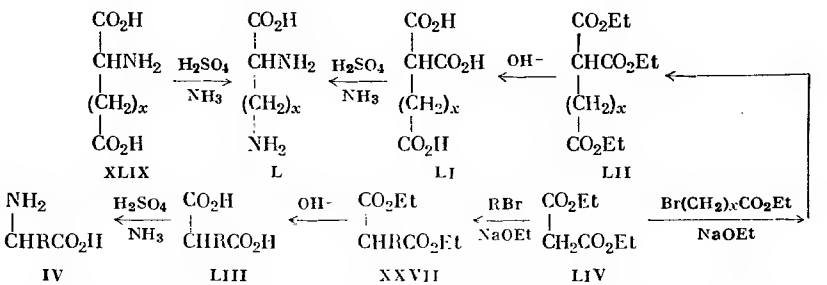
$$\underset{\text{XLVI}}{RCOR'} + \underset{\text{XLII}}{HN_3} \longrightarrow \underset{\text{XLVII}}{RCO{-}NHR'} + \underset{\text{XLV}}{N_2}$$

Вторая из приведенных реакций может быть использована для превращения алкилированного ацетоуксусного эфира (XVIII) в этиловый эфир соответствующей ацетиламинокислоты (XLVIII), после гидролиза которого

образуется аминокислота [45]:

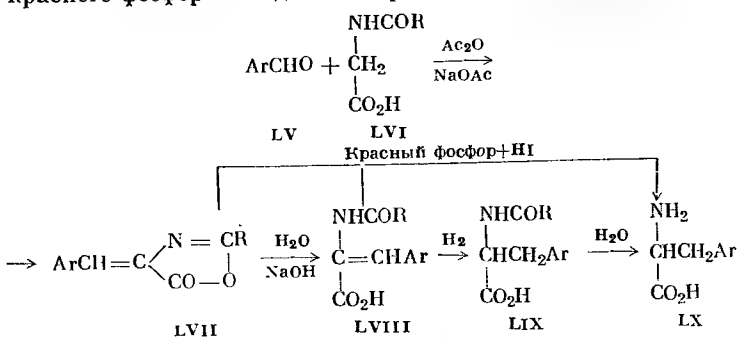
$$\underset{\text{XVIII}}{CH_3COCHRCO_2Et} \xrightarrow[\text{в } C_6H_6]{HN_3+H_2SO_4} \underset{\text{XLVIII}}{CH_3CO{-}NHCHRCO_2Et} \xrightarrow{H_2O} \underset{\text{IV}}{NH_2CHRCO_2H}.$$

Поскольку в указанных условиях α-карбоксильная группа α-аминокислот устойчива к действию азотистоводородной кислоты, то реакция Шмидта может найти применение для превращения моноаминодикарбоновых кислот (XLIX) в диаминомонокарбоновые кислоты (L), содержащие на один углеродный атом меньше, чем исходные кислоты [46, 47]. Диаминокислоты (L) могут быть получены также и из трикарбоновой кислоты типа LI. В случае же замещенного малонового эфира (XXVII), содержащего только две карбоксильные группы, реакция протекает с образованием моноаминомонокарбоновой кислоты (IV) [46, 48]. Хотя в прошлом реакцию Шмидта довольно часто использовали для синтеза диаминомонокарбоновых кислот, она, как это ни странно, сравнительно редко применялась для получения моноаминомонокарбоновых кислот. Однако относительная легкость, с которой обычно получаются соответствующие малоновые (XXVII) и ацетоуксусные (XVIII) эфиры, безусловно, дает возможность предположить, что эта реакция может оказаться полезной в качестве общего метода синтеза обычных аминокислот.



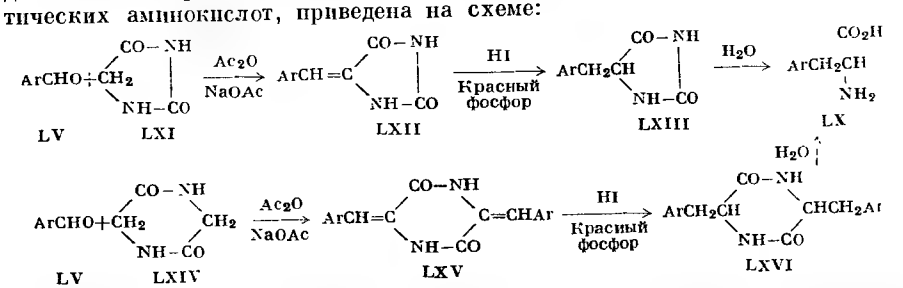
6. Конденсация альдегидов с соединениями, содержащими активную метиленовую группу. Ароматические α-аминокислоты, например фенилаланин, тирозин или триптофан и их замещенные в кольце аналоги, могут быть синтезированы из ненасыщенных азлактонов типа LVII, получаемых конденсацией ароматического альдегида (LV) с ацилглицином (LVI) в уксусном ангидриде или в смеси последнего с ледяной уксусной кислотой. Обычно такие конденсации проводят в присутствии ацетата натрия [48—52] в качестве катализатора, хотя для этой цели пригодны также ацетат меди [53], ацетат свинца [54, 55], карбонат калия и бикарбонат калия [56]. Частичный щелочной гидролиз азлактона (LVII) приводит к образованию ацилдегидроаминокислоты (LVIII), которую восстанавливают в ациламинокислоту (LIX) с помощью таких реагентов, как амальгама натрия [48], или, что лучше, путем каталитического гидрирования в присутствии никеля Ренея или окиси платины [57]. Последующий кислотный или щелочной гидролиз ациламинопроизводного (LIX) приводит к соответствующей аминокислоте (LX) (типичная методика приведена в гл. 5, раздел 8). Предложен также несколько более простой способ, заключающийся в одновременном восстановлении и гидролизе промежуточных продуктов LVII или LVIII до LX

смесью красного фосфора с подистоводородной кислотой [58, 59].

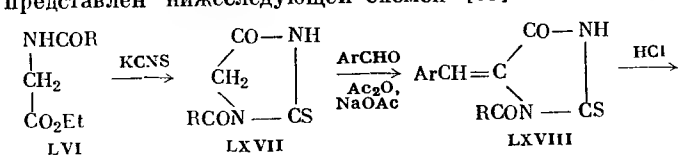


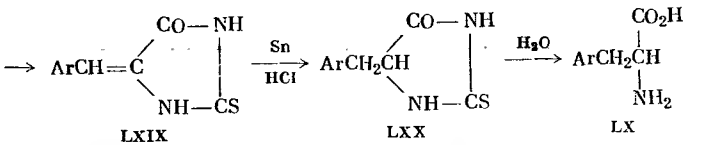
Поскольку, по соображениям практического характера, реакции конденсации, применяемые для получения соответствующих промежуточных азлактонов, лимитированы использованием ароматических альдегидов, рассмотренный метод ограничивается синтезом главным образом ароматических аминокислот. Основные вопросы химии азлактонов рассмотрены более подробно в гл. 5, раздел 8.

Установлено, что ароматические альдегиды легко конденсируются с гидантоинами (LXI) [60—63] и с 2,5-дикетопиперазинами (LXIV) [64]. Эти реакции конденсации аналогичны описанным для азлактонов, поскольку они, с одной стороны, могут проводиться в уксусном ангидриде или в смеси последнего с уксусной кислотой в присутствии соответствующего катализатора, например ацетата натрия, а с другой стороны, образующиеся при этом продукты конденсации LXII и LXV могут быть легко превращены в соответствующую аминокислоту (LX) путем восстановления и последующего гидролиза (типичная методика приведена в книге [93], гл. 42). Последовательность реакций, которую обычно используют для получения ароматических аминокислот, приведена на схеме:

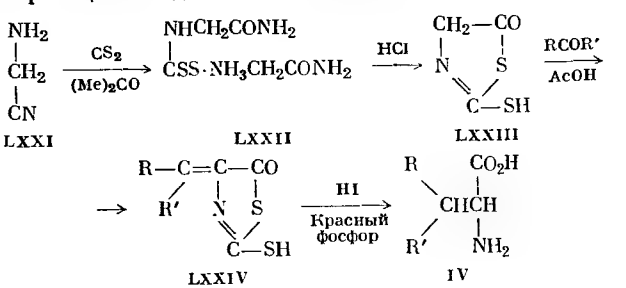


Аналогичный предыдущему, но реже используемый метод заключается в конденсации ароматических альдегидов с тиогидантоинами типа LXVII (R = C_6H_5), образующимися из эфиров гиппуровой кислоты (LVI; R = C_6H_5); типичная методика приведена в книге [93], гл. 34. Метод синтеза представлен нижеследующей схемой [65]:

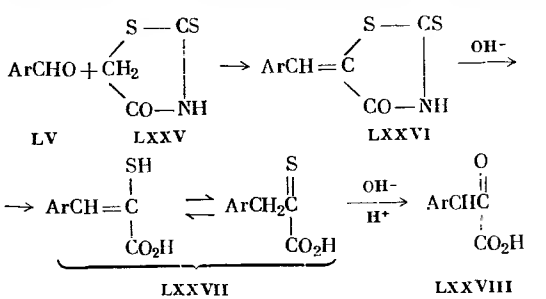




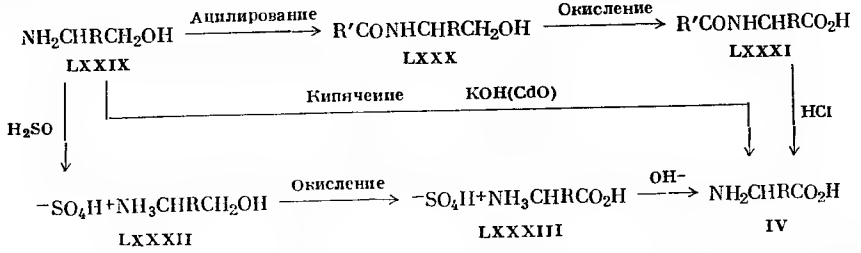
В весьма интересном и более распространенном варианте методов, упомянутых ранее, исходным веществом служит амино-ацетонитрил (LXXI) [66]. Последний под действием сероуглерода в ацетоновом растворе превращается в соединение, представляющее собой карбамилметилдитиокарбамат карбамилметиламмония (LXXII). Последующая обработка LXXII холодной разбавленной минеральной кислотой приводит к образованию ключевого промежуточного соединения, 2-меркаптотиазол-5-она (LXXIII), который в кипящей ледяной уксусной кислоте, содержащей следы пиперидина, легко конденсируется с алифатическими и ароматическими альдегидами или кетонами. Полученный таким образом 4-замещенный 2-меркаптотиазол-5-он (LXXIV) при взаимодействии со смесью красного фосфора и подистоводородной кислоты превращается в соответствующую аминокислоту (IV). Поскольку такой метод дает относительно хорошие выходы, то его можно рассматривать как удобный препаративный метод синтеза алифатических и ароматических α-аминокислот в том случае, когда необходимые для реакции альдегиды или кетоны легко доступны.



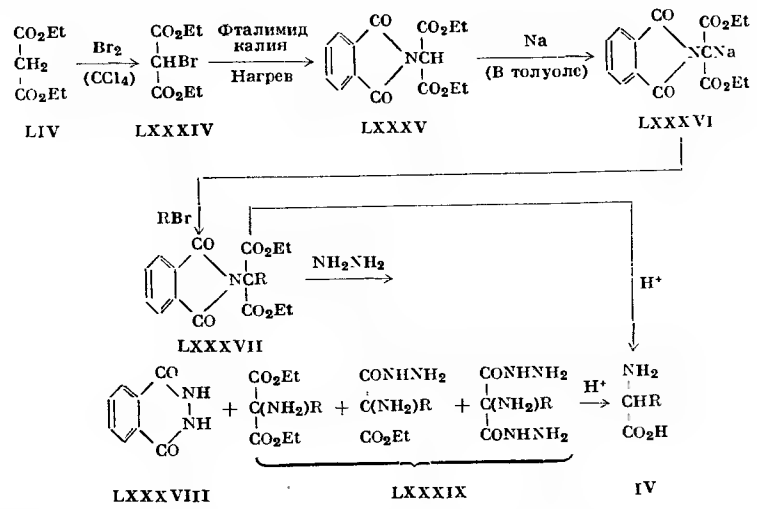
Наконец, конденсация ароматических альдегидов с роданином (LXXV) представляет собой еще один интересный вариант синтеза α-аминокислот [67]. Обработкой продуктов конденсации (LXXVI) сначала щелочью, а затем аммиаком получают соответствующие α-кетокислоты (LXXVIII). Способы, с помощью которых последние превращают в α-аминокислоты через соответствующие α-оксиминопроизводные или фенилгидразоны, уже обсуждались при восстановительном аминировании в разделе 4.



7. Окисление аминоспиртов. Окисление некоторых имеющихся в продаже 2-аминоспиртов, например 2-амино-1-пропанола и 2-амино-1-этанола, является экономически выгодным способом получения соответствующих α-аминокислот. Превращение спиртовой группы в карбоксильную можно проводить по Билману и Паркеру [68] путем первоначального ацилирования аминоспирта LXXIX с образованием соответствующего фталильного или бензоильного производного LXXX и последующего окисления щелочным раствором перманганата, бихроматом калия, хлорным железом и другими окислителями. Кислотный гидролиз полученной ациламинокислоты (LXXXI) приводит к требуемой аминокислоте (IV). В несколько упрощенном методе синтеза, описанном позднее теми же исследователями [69], аминогруппу не защищают блокирующими заместителями, а непосредственно перед окислением превращают в замещенный аммониевый ион (LXXXII) путем добавления какой-нибудь кислоты, например H_2SO_4. Предложен также другой способ превращения аминоспирта LXXIX в аминокислоту (IV), заключающийся в окислении первого горячим едким кали в присутствии окиси кадмия, являющейся очень эффективным катализатором этой реакции [70]. В настоящее время эти методы не находят широкого применения в качестве общего препаративного способа получения α-аминокислот из-за ограниченности выбора легкодоступных аминоспиртов.

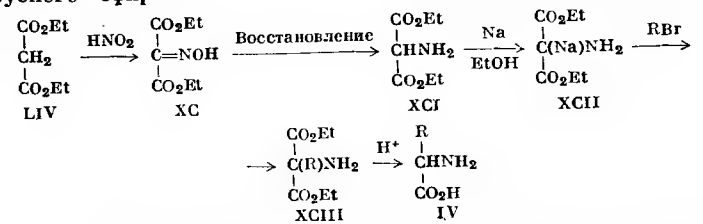


8. Конденсации с эфирами N-замещенной аминомалоновой кислоты. Процесс, начальной стадией которого является конденсация галоидного алкила с N-замещенным аминомалоновым эфиром, представляет собой один из самых удобных из всех существующих методов получения α-аминокислот различного строения. В отличие от других методов, описанных до настоящего времени, в данном случае устраняется необходимость введения α-аминогруппы на конечных стадиях синтеза. Этот метод был введен в 1903 г. Сёренсеном [71—73], который в качестве ключевого промежуточного соединения использовал N-фталимидомалонат (LXXXV). Последний легко получают бромированием малонового эфира (LIV), приводящим к образованию бромма лонового эфира (LXXXIV), и последующей конденсацией (LXXXIV) по Габриэлю с фталимидом калия. Продукт конденсации — этиловый эфир N-фталимидомалоновой кислоты (LXXXV) — действием металлического натрия в подходящем растворителе, например в толуоле, превращают в натриевую соль (LXXXVI). Конденсация полученной соли с хлористым или бромистым алкилом приводит к образованию моноалкилированного фталимидомалонового эфира (LXXXVII). Последнюю реакцию проводят а) при нагревании в отсутствие растворителя или, что предпочтительнее, б) в предварительно высушенном растворителе, например в толуоле, в смеси эфир — спирт или ксилоле. Расщепление эфира (LXXXVII) до соответствующей аминокислоты (IV) лучше всего достигается продолжительным гидролизом минеральной кислотой или менее жестким кислотным гидролизом смеси продуктов реакции (LXXXIX), образующихся после расщепления фталильного производного с помощью гидразина [22, 23].

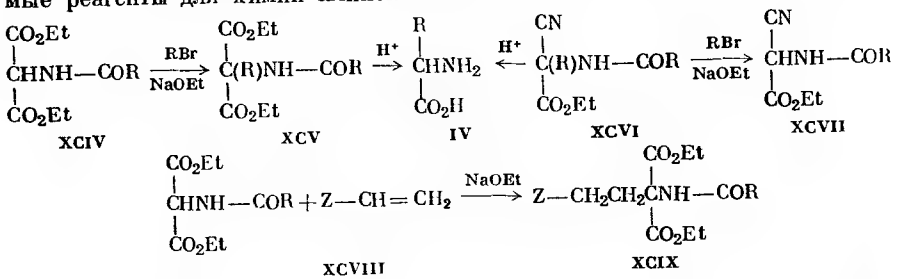


Несмотря на исключительно успешное использование метода Сёренсена для синтеза разнообразных аминокислот, уже давно предпринимались попытки к его усовершенствованию. В результате проведенных исследований в качестве ключевого промежуточного соединения для этой реакции был использован аминомалоновый эфир (XCI) вместо ранее применявшегося N-фталильного производного. Аминомалоновый эфир (XCI) был получен нитрозированием малонового эфира (LIV) азотистой кислотой [74—76] или метилнитритом [77, 78] с последующим восстановлением полученного изонитрозомалонового эфира (XC) с помощью амальгамы алюминия [75, 78] или никеля Ренея [79]. Аминомалоновый эфир (XCI) превращают в натриевое производное (XCII), которое сразу конденсируют с галогенным алкилом и получают диэтиловый эфир C-алкилзамещенной аминомалоновой кислоты (XCIII). Гидролиз и декарбоксилирование эфира (XCIII) до аминокислоты (IV) может быть проведено затем в одну стадию кислотным гидролизом или нагреванием при 150° с водой в автоклаве [75, 78, 80]. Однако следует отметить, что наличие в исходном соединении незащищенной аминогруппы приводило к образованию N-алкилированного аминомалонового эфира наряду с соответствующим C-алкилированным соединением XCIII; действительно, отмечено, что при этом образуются значительные количества N-алкилпроизводных. Поскольку вследствие этой побочной реакции аминокислоты получались недостаточно чистыми, дальнейшие исследования, предпринятые для усовершенствования метода Сёренсена, проводились с реагентами, у которых реакционноспособная аминогруппа была эффективно блокирована ацильным заместителем. Этиловый эфир фталимидомалоновой кислоты, который первоначально использовался Сёренсеном для получения α-аминокислот, был со временем в значительной мере заменен рядом аналогичных реагентов. К последним относятся N-бензоильное (XCIV; R = C_6H_5). N-ацетильное (XCIV; R = CH_3) и N-формильное (XCIV; R = H) производные аминомалонового эфира, а также N-ацетильное (XCVII; R = CH_3) и N-фенацетильное (XCVII; R = $C_6H_5CH_2$) производные амино-

цианауксусного эфира.



Этиловый эфир формамидомалоновой кислоты (XCIV; R = H), применяемый для этой цели, получают восстановлением изонитрозомалонового эфира (XC) цинком в растворе муравьиной кислоты [81, 82]; остальные же эфиры готовят ацилированием аминомалонового [75, 83] или аминоцианауксусного эфиров [84, 85]. Конденсацию ациламиномалонового эфира (XCIV) или ациламиноцианауксусного эфира (XCVII) с галогенным алкилом проводят обычно в абсолютном этаноле, содержащем 1 эквивалент этилата натрия [81, 85—88], хотя иногда применение инертного растворителя, например толуола в присутствии гидрида натрия, оказывается более предпочтительным [89]. В большинстве случаев продукт конденсации (XCV или XCVI) гидролизуют до соответствующей аминокислоты (IV) кипячением с минеральной кислотой или, что менее удачно, со щелочью (типичная методика приведена в книге [93], гл. 42). Следует обратить внимание на тот факт, что если на стадии конденсации вместо галогенного алкила применяют такие активные ненасыщенные соединения, как акролеин (XCVIII; Z = = CHO), эфир акриловой кислоты (XCVIII; Z = $CO_2C_2H_5$) или акрилонитрил (XCVIII; Z = CN), то соответствующий аддукт (XCIX) получают конденсацией по Михаэлю [90—92]. Аддукты последнего типа имеют большое значение для получения аминокислот, что подтверждается способностью γ-ацетамидо-γγ-дикарбэтоксимасляного альдегида (XCIX; R = CH_3, Z = = CHO) превращаться после соответствующей обработки в триптофан, глутаминовую кислоту, орнитин, лизин [91] и другие аминокислоты. Поскольку формильная, ацетильная и фенацетильная группы обладают большей чувствительностью к гидролитическому расщеплению, чем бензоильная или фталильная группы, то первые являются более подходящими защитными группами для аминомалоновых и аминоцианауксусных эфиров. Сравнительно легкая доступность выпускаемых промышленностью ацетамидомалоната (XCIV; R = CH_3) и ацетамидоцианацетата (XCVII; R = CH_3), а также хорошие предпосылки для их применения, возникшие в результате работ ряда исследователей, в особенности Альбертсона с сотрудниками [86, 87], превратили эти специфические соединения в широкоиспользуемые реагенты для химии аминокислот.



Поскольку рассмотренный метод экономичен в отношении затраты труда и материалов и позволяет в большинстве случаев получать конечное соединение с высоким выходом, то в настоящее время он является самым распространенным способом для синтеза аминокислот в лабораторных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Strecker A., Ann., 75, 27 (1850).
2. Ehrlich F., Ber., 40, 2538 (1907).
3. Limpricht H., Ann., 94, 243 (1855).
4. Barger G., Coyne F. P., Biochem. J., 22, 1417 (1928).
5. Erlenmeyer E., Lipp A., Ber., 15, 1006 (1882); Ann., 219, 161, 179 (1883).
6. Fischer E., Leuchs H., Ber., 35, 3787 (1902).
7. Зелинский Н., Стадников Г., Ber., 41, 2061 (1908).
8. Cocker W., Lapworth A., J. Chem. Soc., 1931, 1391.
9. Bücherer H. T., Lieb V. A., J. prakt. Chem., 141, 5 (1934).
10. Bücherer H. T., Steiner W., J. prakt. Chem., 140, 291 (1934).
11. Gaudry R., Can. J. Research, B, 24, 301 (1946); 26, 773 (1948).
12. Loftfield R. B., Nucleonics, 1, 54 (1947).
13. Frantz I. D., Loftfield R. B., Miller W. W., Science, 106, 544 (1947).
14. Pinner A., Spilker A., Ber., 22, 685 (1889).
15. Cahours A., Compt. rend., 46, 1044 (1858); Ann., 109, 10 (1859).
16. Kraut K., Ber., 23, 2577 (1890); Ann., 266, 292 (1891).
17. Tobie W. C., Ayres G. B., J. Am. Chem. Soc., 59, 950 (1937).
18. Heintz W., Ann., 122, 257 (1862); 124, 297 (1862); 136, 213 (1865); 145, 49 (1868).
19. Kekulé A., Ann., 130, 18 (1864).
20. Cheronis N. D., Spitzmueller K. H., J. Org. Chem., 6, 349 (1941).
21. Goedeckemeyer C., Ber., 21, 2684 (1888); Gabriel S., Kroseberg K., Ber., 22, 426 (1889).
22. Sheehan J. C., Bolhofer W. A., J. Am. Chem. Soc., 72, 2786 (1950).
23. King F. E., Robinson R., J. Chem. Soc., 1932, 1433.
24. Hillmann G., Hillmann A., Z. physiol. Chem., 283, 71 (1948).
25. Takizawa S., Sci. Repts. Research Insts. Tôhôku Univ., Ser. A., 4, 311, 316 (1952).
26. Erlenmeyer E., Ann., 271, 137 (1892); Ber., 30, 2976 (1897); 31, 2238 (1898).
27. Bouveault L., Locquin R., Bull. Soc. chim., (3), 31, 1180 (1904); 35, 965 (1906).
28. Fischer E., Groh R., Ann., 383, 363 (1911).
29. Hamlin K. E., Hartung W. H., J. Biol. Chem., 145, 349 (1942).
30. Walters K. L., Hartung W. H., J. Org. Chem., 10, 524 (1945).
31. Феофилактов В. В. и др., ЖОХ, 10, 255, 258 (1940); 21, 399, 1684, 1851 (1951); 23, 463, 669, 887 (1953).
32. Wolf L., Ann., 260, 79 (1890).
33. Fischer E., Weigert F., Ber., 35, 3772 (1902).
34. Knoop F., Oesterlin H., Z. physiol. Chem., 148, 294 (1925); 170, 186 (1927).
35. Schoenheimer R., Ratner S., J. Biol. Chem., 127, 301 (1939).
36. Смит П. А. С., Органические реакции, сб. 3, ИЛ, 1946, стр. 148.
37. Curtius T., Sieber W., Ber., 54, 1430 (1921); 55, 1543 (1922).
38. Curtius T., J. prakt. Chem. (2), 125, 211 (1930).
39. Curtius T., Benckiser A., J. prakt. Chem., 125, 236 (1930).
40. Darapsky A., Decker H., Steuernagel E., Schiedrum O., J. prakt. Chem., 146, 250 (1936).
41. Gagnon P. E., Nadeau G., Côte R., Can. J. Chem., 30, 592 (1952).
42. Huang Y-T., Lin K-H., Li L., J. Chinese Chem. Soc., 15, 38, 46 (1947).
43. Уаллис Э. С., Лан Дж. Ф., Органические реакции, сб. 3, ИЛ, 1951, стр. 255.
44. Вольф Г., Органические реакции, сб. 3, ИЛ, 1951, стр. 293.
45. Schmidt K. F., Ber., 57, 704 (1924).
46. Adamson D. W., J. Chem. Soc., 1939, 1564.
47. Rothchild S., Fields M., J. Org. Chem., 16, 1080 (1951).
48. Briggs L. H., De Ath G. C., Ellis S. R., J. Chem. Soc., 1942, 61.
49. Erlenmeyer E., Ann., 275, 1, 8 (1893); 307, 70 (1899); Ber., 33, 2036 (1900); 35, 2483 (1902).
50. Erlenmeyer E., Halsey J. T., Ann., 307, 138 (1899).
51. Erlenmeyer E., Früstück E., Ann., 284, 36 (1895).

52. Erlenmeyer E., Kunlin J., Ann., 316, 145 (1901).
53. Fischer H., Hofmann H.-J., Z. physiol. Chem., 245, 139 (1936—1937).
54. Finar I. L., Libmann D. D., J. Chem. Soc., 1949, 2726.
55. Baltazzi E., Robinson R., Chem. & Ind. (London), 1954, 191.
56. Galat A., J. Am. Chem. Soc., 72, 4436 (1950).
57. Хербст Р., Шемин Д., Синтезы органических препаратов, сб. 2, ИЛ, 1949, стр. 499.
58. Harington C. R., McCartney W., Biochem. J., 21, 852 (1927).
59. Джиллеспи Х., Снайдер Х., Синтезы органических препаратов, сб. 2, ИЛ, 1949, стр. 496.
60. Majima R., Ber., 55, 3859 (1922).
61. Wheeler H. L., Hoffman C., Am. Chem. J., 45, 368 (1911).
62. Johnson T. B., Nicolet B. H., J. Am. Chem. Soc., 33, 1973 (1911).
63. Johnson T. B., Bates J. S., J. Am. Chem. Soc., 38, 1087 (1916).
64. Sasaki T., Ber., 54, 163 (1921).
65. Johnson T. B., O'Brien W. B., J. Biol. Chem., 12, 205 (1912).
66. Cook A. H., Heilbron I. M., Levy A. L., J. Chem. Soc., 1947, 1594; Billimoria J. D., Cook A. H., J. Chem. Soc., 1949, 2323.
67. Gränacher C., Helv. Chim. Acta, 5, 610 (1922); Gränacher C., Gero M., Ofner A., Klopfenstein A., Schlatter E., Helv. Chim. Acta, 6, 458 (1923).
68. Billmann J. H., Parker E. E., J. Am. Chem. Soc., 65, 761 (1943); 65, 2455 (1943); Billmann J. H., Пат. США 2394230 (1946).
69. Billmann J. H., Parker E. E., Smith W. T., J. Biol. Chem., 180, 29 (1949).
70. Curme G. O., Chitwood H. C., Clark J. W., пат. США 2384816 (1945); Chitwood H. C., Пат. США 2384817 (1945).
71. Sörensen S. P. L., Compt. rend. trav. lab. Carlsberg, Sér. chim., 6, 1 (1903—1906).
72. Sörensen S. P. L., Z. physiol. Chem., 44, 448 (1905).
73. Sörensen S. P. L., Andersen A. C., Z. physiol. Chem., 56, 236 (1908).
74. Conrad M., Bischoff C. A., Ber., 13, 595 (1880).
75. Locquin R., Cerchez V., Compt. rend., 186, 1360 (1928).
76. Cerchez V., Bull. soc. chim. (4), 47, 1279, 1381 (1930).
77. Bouveault L., Wahl A., Bull. soc. chim., (3), 29, 960 (1903).
78. Putochin N. J., Ber., 56, 2213 (1923).
79. Levene P. A., Schormüller A., J. Biol. Chem., 106, 595 (1934).
80. Keimatsu S., Kato C., J. Pharm. Soc., Japan, 49, 731 (1929).
81. Galat A., J. Am. Chem. Soc., 69, 965 (1947).
82. Hellmann H., Lingens F., Z. physiol. Chem., 297, 283 (1954).
83. Locquin R., Bull. soc. chim. (4), 49, 42 (1931).
84. Cerchez V., Colesiu C., Compt. rend., 194, 1954 (1932).
85. Erhart G., Chem. Ber., 82, 60 (1949).
86. Albertson N. F., Archer S., J. Am. Chem. Soc., 67, 308 (1945).
87. Albertson N. F., Tullar B. F., J. Am. Chem. Soc., 67, 502 (1945).
88. Redemann C., Dunn M. S., J. Biol. Chem., 130, 341 (1939).
89. Shapira J., Shapira R., Dittmer K., J. Am. Chem. Soc., 75, 3655 (1953).
90. Albertson N. F., Archer S., J. Am. Chem. Soc. 67, 2043 (1945).
91. Moe O. A., Warner D. T., J. Am. Chem. Soc., 70, 2763, 2765, 3918 (1948).
92. Snyder H. R., Shekleton J. F., Lewis C. D., J. Am. Chem. Soc., 67, 310 (1945).
93. Greenstein J. P., Winitz M., Chemistry of the Amino Acids, New York — London, J. Wiley, 1960.

ГЛАВА 3

ОПТИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

1. Определение. Под термином «оптическое разделение» понимается процесс, посредством которого из рацемической смеси или соединения выделяют и получают в чистом виде оба оптических изомера. В той или иной форме все методы оптического разделения берут начало от знаменитых исследований Луи Пастера, пионера в этой области. Пастеровские принципы разделения оптических антиподов основывались по существу на следующем: а) на механическом разделении кристаллов, обладающих необходимой гемиэдричностью, б) на различной растворимости диастереоизомерных солей рацемата с оптически активными соединениями и в) на действии живых организмов или ферментов, выделенных из живых организмов и предпочтительно использующих или действующих на один из оптических антиподов или его производное. Опубликованы обстоятельные обзоры по методам оптического разделения аминокислот [1, 2]. Здесь не рассматривается такой процесс, как вальденовское обращение, в котором один оптический антипод легко превращается в другой (ср. с гл. 4 и работами [3, 4]).

2. Методы кристаллизации. Первый пример селективной кристаллизации был дан Пьютти [5], сообщившим о выделении D-аспарагина из маточного раствора от кристаллизации неочищенного L-аспарагина; это разделение было впоследствии дополнено пастеровским методом механического отбора D-кристаллов, основанном на их гемиэдрическом характере. Душинским [6] описано разделение последовательной кристаллизацией смеси 340 *г* хлоргидрата L-гистидина и 666 *г* хлоргидрата DL-гистидина на фракции: 400 *г* хлоргидрата L-гистидина, 540 *г* хлоргидрата DL-гистидина и 46 *г* хлоргидрата D-гистидина. В значительной степени тем же путем Веллюз и Амьяр [7] из смеси 9 *г* DL-треонина и 1 *г* L-треонина в насыщенном водном растворе получили по охлаждении 2,07 *г* L-треонина; в результате последующего внесения 2,07 *г* DL-треонина в маточный раствор, нагревания и охлаждения раствора выкристаллизовалось 2,95 *г* загрязненного D-треонина. Перекристаллизацией его было получено 1,7 *г* чистого D-треонина.

Аналогичный метод, основанный на изотопном разбавлении, использован Вейнхаузом и Миллингтоном [8], а также Вудом и Гатманом [9]. Разбавлением DL-тирозина, меченного C^{14}, избытком немеченого L-тирозина и фракционной кристаллизацией первые авторы получили L-тирозин, содержащий некоторое количество меченого L-тирозина, содержавшегося первоначально в рацемате. Вторые из названных авторов аналогично разбавляли S-бензил-DL-цистеин (с радиоактивной серой) избытком немеченого S-бензил-L-цистеина и фракционной кристаллизацией получили S^{35}-бензил-L-цистеин.

Подобная же методика использовалась для выделения меченого D-метионина из смеси радиоактивного S-бензил-DL-гомоцистеина и немеченого S-бензил-D-гомоцистеина путем последовательного восстановления и метилирования меченой S-бензил-D-гомоцистеиновой фракции. Во всех случаях кристаллизация проводилась до постоянной удельной радиоактивности. Этот метод, очевидно, не является оптическим разделением в духе данного выше определения, но представляет собой лишь обмен в рацемате части нерадиоактивного соединения на тот же, но меченый изомер. При этом рацемат должен обладать значительной меткой, чтобы радиоактивность выделенного оптического изомера была достаточна для использования его в качестве радиоактивного индикатора.

Трудности этого метода иллюстрируются попытками Арнстайна и др. [10] получить меченный углеродом C^{14} L- или D-лизин введением в раствор DL-лизина, меченного C^{14}, избытка немеченого L- или D-лизина, превращением всей смеси в пикрат и кристаллизацией смеси пикратов из воды до постоянной радиоактивности. Несмотря на кажущееся достижение постоянной радиоактивности у оптически активных изомеров лизина, пробы с лизин-декарбоксилазой показали, что оба изомера были заметно загрязнены соответствующей энантиоморфной формой (до 10—20% по радиоактивности). Как указывают эти авторы, успех метода основывается на предположении, что на растворимость рацемического пикрата лизина в воде не влияет присутствие большого избытка пикрата оптически активного лизина. Однако едва ли это верно, и поэтому в некоторой степени вполне может иметь место соосаждение (ср. с работой [11]). Поляриметрическими измерениями умеренное соосаждение можно и не обнаружить. Так, раствор 5 частей немеченого L-лизина и 1 части меченого DL-лизина содержит L- и D-лизин в отношении 11 : 1, однако общие радиоактивности L- и D-фракций оказываются равными. Загрязнение L-лизина всего 1% D-лизина, трудно обнаруживаемое поляриметрическими или простыми радиометрическими измерениями, тем не менее означает, что около 10% радиоактивности L-лизина обусловлено присутствием D-лизина.

Кёгль и другие [12] получили L- и D-глутаминовые кислоты, меченные C^{14}, с несколько необычно высоким выходом, добавляя оптически активную глутаминовую кислоту к меченому рацемату с последующей кристаллизацией. Учитывая результаты, достигнутые Арнстайном и др. [10], сомнительно, чтобы эта методика представляла общую ценность в том случае, когда желательно получить чистые энантиоморфные формы.

3. Диастереоизомерные соли. Образование солей оптически активных оснований с рацемическими кислотами или оптически активных кислот с рацемическими основаниями ведет к диастереоизомерным смесям, которые можно разделить на оптические изомеры на основании различной растворимости обоих компонентов таких смесей, т. е.

$$(+)B+(dl)A \longrightarrow (+)B\cdot(l)A+(+)B\cdot(d)A$$

или

$$(+)A+(dl)B \longrightarrow (+)A\cdot(l)B+(+)A\cdot(d)B;$$

Эти соли в свою очередь можно разложить обменной реакцией с основанием, более сильным, чем (+) B, или с кислотой, более сильной, чем (+) A, до свободных оптически активных изомеров (*dl*)A или (*dl*)B.

Этот классический метод Пастера впервые был применен для разделения оптических изомеров *dl*-винной кислоты, причем в качестве оснований использовались алкалоиды. Рацемические основания были в свою очередь

разделены на оптические изомеры с помощью оптически активных кислот. С применением этих взаимосвязанных методик стало доступно большее количество оптически активных кислот и оснований — реагентов оптического разделения рацематов,— чем можно было получить из природных источников.

Необходимость в более широком наборе оптически активных соединений, пригодных для разделения, вытекает из существа этого в значительной степени эмпирического метода. Для непосредственного успешного разделения рацемата разделяющий реагент должен образовывать сравнительно прочно построенную соль по крайней мере с одним из оптических изомеров рацемата, причем эта соль должна в условиях опыта чисто и количественно отделяться в виде осадка от такой же соли другого изомера. Однако такая подходящая ситуация встречается редко. Более трудно растворимая соль неизменно захватывает некоторое количество легче растворимой, последняя же, находящаяся в маточном растворе, бывает загрязнена примесью первой соли. Время, требуемое для выпадения менее растворимой соли, очевидно, зависит от экспериментальных условий и, при отсутствии количественных измерений, часто определяется интуицией экспериментатора. Поэтому полная очистка обеих солей достигается рядом трудоемких кристаллизаций с одновременным поляриметрическим контролем и дополняется, где это возможно, исследованием формы кристаллов. При этом очистке более легко растворимых солей (обычно сильнее загрязненных) явно способствует замена разделяющего агента другим, дающим труднее растворимую, а следовательно, легче очищаемую комбинацию. Условия, необходимые для успешного разделения оптических изомеров, нельзя предсказать заранее, и разделение рацематов в каждом отдельном случае представляет специальную экспериментальную задачу. Также невозможно предсказать, даже в случае легкого разделения, которая из диастереоизомерных солей данного рацемата будет легче или труднее растворима в применяемой для разделения среде. Этот метод не является ключом к установлению оптической конфигурации соответствующих изомеров, и если для сравнения нет изомера с известной конфигурацией, то разделенные таким образом энантиомеры приходится подвергать дальнейшим исследованиям, которые могут дать такие сведения.

Несмотря на значительные трудности, этот метод в той или иной форме с успехом применялся для разделения ряда α-аминокислот. В 1899 г. Э. Фишер превращал рацемический аланин, а также глутаминовую и аспарагиновую кислоты в N-бензоильные производные и смешивал последние с бруцином или стрихнином в эквимолярных отношениях [13]. Из выпадавших диастереоизомерных солей алкалоид удаляли обработкой щелочью, а энантиоморфные бензоиламинокислоты превращали в свободные аминокислоты длительным кипячением с концентрированной соляной кислотой. Эта классическая работа положила начало всем последующим исследованиям в этой области. Особенно примечательно здесь использование сперва одного алкалоида для выделения одного из бензоилированных оптических изомеров аланина, а затем другого — для отделения соответствующего энантиомера. Поскольку гидролиз бензоильной группы требовал довольно жестких условий, способствующих частичной рацемизации продуктов, Фишер впоследствии использовал в качестве заместителя в рацемической аминокислоте легче гидролизуемую N-формильную группу. В течение первых лет этого века Фишер и его ученики разделили на оптические изомеры ряд аминокислот, а его методы с некоторыми видоизменениями, соответствующими характеру изучаемых веществ, были распространены другими исследователями на разделение более сложных α-аминокислот.

Чтобы придать α-аминокислотам достаточно кислые свойства и сделать их способными к образованию солей с оптически активными основаниями, в большинстве методик разделения применялись аминокислоты, ацилированные по аминогруппе. Однако в некоторых случаях использовались обладающие основными свойствами сложные эфиры или амиды рацемических аминокислот, способные давать соли с оптически активными кислотами. Такие аминокислоты, как лизин или гистидин, сами являющиеся основаниями, были разделены на оптические изомеры простым смешением с оптически активной кислотой, без превращения их в какие-либо производные. Представляло бы явные преимущества оптическое разделение аминокислот без предварительного введения какой-либо группы и удаления ее после разделения; был сделан ряд попыток оптического разделения нейтральных рацемических аминокислот образованием комплексных солей с оптически активными основаниями.

Таблица 5

Кислоты и основания, применяемые для разделения аминокислот и их производных на оптические изомеры

Соединение	Формула	Мол. вес
Камфорная кислота [а]	$C_{10}H_{16}O_4$	200,2
Камфорсульфокислота	$C_{10}H_{16}O_4S$	232,3
Бромкамфорсульфокислота	$C_{10}H_{15}O_4BrS$	311,4
Хлоркамфорсульфокислота	$C_{10}H_{15}O_4ClS$	266,8
Винная кислота	$C_4H_6O_6$	150,1
Бруцин	$C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot 4H_2O$	466,5
Цинхонидин	$C_{19}H_{22}N_2O$	294,4
Цинхонин	$C_{19}H_{22}N_2O$	294,4
Фенхиламин [б]	$C_{10}H_{19}N$	153,1
Морфин	$C_{17}H_{19}NO_3 \cdot H_2O$	303,4
Хинидин	$C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot 2^1/_2H_2O$	369,5
Хинин	$C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot 3H_2O$	378,5
α-Фенилэтиламин [в]	$C_8H_{11}N$	121,1
Стрихнин	$C_{21}H_{22}N_2O_2$	334,4
трео-l-п-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3 [г]	$C_9H_8N_2O_4$	208,2

[а] *d*-Изомер получен окислением *d*-камфоры, *l*-изомер получен из *l*-борнеола [21].

[б] Рацемат разделен с помощью ацетил-L-лейцина [14]; нерастворимая соль соответствует *d*-изомеру, *l*-изомер выделен из фильтрата и очищен в виде соединения с салициловым альдегидом.

[в] Рацемат разделен с помощью ацетил-L-лейцина [14]; нерастворимая соль соответствует *d*-изомеру. *l*-Изомер получен в виде чистой нерастворимой соли обработкой рацемата ацетил-L-3,5-дибромтирозином.

[г] Оптические антиподы [17] получены действием на рацемат *d*-камфорсульфокислоты. Менее растворимая соль дала L-изомер, родственный природному хлорамфениколу. Более растворимая соль выделена из фильтрата.

В табл. 5 приведены кислоты и основания, обычно используемые для разделения аминокислот на оптические изомеры. Следует заметить, что некоторые синтетические соединения, примененные для оптического разделения, сами были разделены на антиподы, что удваивает их ценность, поскольку в некоторых случаях один антипод можно использовать для осаждения одного оптического изомера из рацемата и другой антипод — для осаждения другого изомера. Среди наиболее изящных работ, проведенных недавно в этой области, выделяются работы Ингерсолла с сотрудниками, использовавшими ацетил-L-лейцин в качестве разделяющего агента для получения антиподов *dl*-фенилэтиламина и *dl*-фенхиламина [14—16], а также работы Веллюза и его сотрудников, применивших оба антипода *трео-п*-нитрофенил-2-аминопропандиола-1,3 [17] для разделения ряда аминокислот [18—20].

Общая методика разделения с использованием свободной рацемической аминокислоты или какого-либо ее производного состоит в следующем. Рацемат растворяют или просто суспендируют в желаемом растворителе (обычно в воде или в спиртово-водной смеси) и раствор подогревают. Если рацемат является моноосновением или монокислотой, к нему прибавляют соответственно 1 молярный эквивалент оптически активного основания или кислоты; если же рацемат является двухосновной кислотой, то добавляют 1 молярный эквивалент неорганического щелочного агента и 1 молярный эквивалент оптически активного основания или же 2 молярных эквивалента оптически активного основания. Смесь подогревают до растворения, фильтруют и оставляют охлаждаться до желаемой температуры в течение какого-то оптимального времени, эмпирически подобранных для данного опыта. В большинстве случаев лучше всего реакционную смесь охлаждать до температуры не выше комнатной (около 20—25°) во избежание загрязнения осадка легче растворимым изомером. По окончании выпадения осадка (определяется визуально) кристаллы отфильтровывают, слегка промывают холодным растворителем, сушат и взвешивают. Вес осадка не должен сильно отклоняться от ожидаемого, т. е. от суммы половины количества рацемата и половины количества разделяющего агента. Часть веса может приходиться на кристаллизационный растворитель, но обычно это лишь очень небольшая доля общего количества. При подборе условий оптического разделения нового соединения по этой методике обычно одновременно испытывают ряд разделяющих агентов и отбрасывают те из них, которые не дают желаемого выхода с первого раза. При этом нельзя, конечно, всецело полагаться на этой стадии только на вес, поскольку осадок может быть солью разделяющего агента не с каким-либо из изомеров рацемата, а с самим рацематом. В некоторых случаях это обстоятельство весьма ценно, и к нему часто обращаются при разделении рацемических диастереомеров, однако в данном примере оно нежелательно. Затем определяют оптическое вращение осадка (обычно в спиртовом растворе) и перекристаллизовывают его из того же растворителя или смеси растворителей, которые использовались для разделения. Обычно на этой стадии кристаллизуемую смесь можно охлаждать; после отфильтровывания и сушки осадка вновь производят определение оптического вращения. Эту процедуру продолжают до достижения постоянных значений вращения. Как правило, для этой цели достаточно одной-двух кристаллизаций, потому что после такой обработки нерастворимый компонент пары диастереомерных солей редко бывает загрязнен существенным количеством легче растворимой соли.

Тем временем, если экспериментатору посчастливится, легче растворимая диастереомерная соль медленно выкристаллизовывается из фильтрата от разделения первоначальной смеси. Иногда простая фильтрация и последующее встряхивание первоначальной разделяемой смеси вызывают кристаллизацию в фильтрате более растворимой (при этом, очевидно, лишь немногим более растворимой) соли. Если это происходит, то нельзя основываться на

сказанном выше относительно загрязненности менее растворимой соли более растворимой. Действительно, при первом разделении дииодтиронина были отброшены труднее растворимые соли и собраны более чистые и легче растворимые [22]. Все же, как правило, более растворимая соль остается определенное время в фильтрате в растворенном состоянии. По удалении упариванием значительной части растворителя она часто выкристаллизовывается и может быть очищена несколькими перекристаллизациями. Величина оптического вращения этой соли не имеет отношения к величине вращения нерастворимой соли, поскольку эти соли являются не антиподами, а диастереоизомерами. Если очистка этим путем не удается (а условия ее часто неизвестны до тех пор, пока окончательно не выделена свободная аминокислота), рекомендуется растворить исследуемый материал в растворителе, содержащем по возможности большой процент воды, и добавить небольшой избыток неорганического щелочного агента, если разделяющий агент является основанием, или неорганической кислоты, если разделяющий агент — кислота. Разделяющий агент затем отфильтровывают и промывают, а избыток кислоты или основания в фильтрате нейтрализуют. Фильтрат обрабатывают новым разделяющим агентом, отличным от взятого ранее, либо (если он доступен) антиподом первоначального агента, дающим нерастворимую соль. При использовании разделяющих агентов-антиподов вращения полученных солей будут равны по величине и противоположны по знаку, а растворимости таких солей будут одинаковы.

Когда желаемая чистота диастереомерных солей достигнута, их растворяют (при нагревании, если необходимо) в сравнительно большом объеме растворителя и разлагают добавлением избытка кислоты или щелочи. Разделяющий агент отфильтровывают, промывают и сушат, после чего он может быть использован снова. Фильтрат экстрагируют хлороформом для удаления остатков разделяющего агента и свободную аминокислоту или ее производное выделяют и идентифицируют. Производные, являющиеся в общем N-ацилированными аминокислотами, сложными эфирами, амидами или пирролидонами, превращают в свободные аминокислоты гидролизом с помощью соляной кислоты. Иногда, например, при оптическом разделении N-нитробензоильного производного пролина, гидролитический процесс ведет к частичной рацемизации [23]. Поэтому следует принять меры предосторожности, чтобы на этой конечной стадии не испортить, хотя бы частично, сделанного ранее. Изомерные аминокислоты, способные кристаллизоваться из воды, часто удается освободить от примеси рацемата несколькими перекристаллизациями из этого растворителя; выходы в таких случаях часто бывают понижены.

N-Формильная, N-ацетильная, амидная и сложноэфирная группы легко удаляются кипячением с разбавленной соляной кислотой. Лишь недавно Веллюзом и др. [24] была введена в употребление NN-дибензильная группа, которую можно легко удалить из замещенной аминокислоты каталитическим гидрированием. Аналогичное преимущество N-толуолсульфонильной группы, удаляемой раствором натрия в жидком аммиаке, использовано Рудингером и Чурбовой [25]. Как правило, применение рацемических эфиров аминокислот в качестве исходных материалов для оптического разделения не дает вполне удовлетворительных результатов из-за неустойчивости этих соединений и приводит к циклизации или полимеризации. Попытка разделить изобутиловый или этиловый эфиры DL-лейцина с помощью *d*-тартрата для первого эфира и дибензоил-*d*-тартрата — для второго привела только к осаждению загрязненных солей соответственно L- и D-изомеров [26]. Лучшие результаты были достигнуты применением более стойких бензиловых эфиров

Таблица 6

Оптическое разделение свободных рацемических аминокислот

Аминокислота	Нерастворимый изомер	Разделяющий агент для нерастворимого изомера	Растворимый изомер	Разделяющий агент для растворимого изомера	Литература
алло-α-Аминотрикарбаллилловая кислота	D	Бруцин	L	Бруцин	28
Бутирин	D	Холестеносульфокислота	—	—	29
Глутаминовая кислота	D	*l*-1-Окси-2-аминобутан [а]	L	*l*-1-Окси-2-аминобутан [а]	30
Гистидин	D	*d*-Винная кислота	L	*d*-Винная кислота	31
Лейцин	D	Холестеносульфокислота	—	—	29
Лизин	L	*d*-Камфорная кислота	—	—	21, 32
»	D	*l*-Камфорная кислота	—	—	21
»	D	*d*-Дибензоилвинная кислота	L	*d*-Дибензоилвинная кислота	33
»	L	N-Ацетил-L-3,5-дибромтирозин [б]	—	—	33
»	D	N-Ацетил-D-3,5-дибромтирозин [в]	—	—	33
Метионин	L	*d*-Бромкамфор-π-сульфонат	—	—	34
»	D	*l*-Бромкамфор-π-сульфонат	—	—	34
α-Фенилглицин	D	*d*-Камфорсульфокислота	—	*d*-Камфорсульфокислота	35
»	L	*d*-Бромкамфорсульфокислота	—	—	35
Пиколиновая кислота	D	*d*-Винная кислота	L	*l*-Винная кислота	36
Тирозин	D	Холестеносульфокислота	—	—	29

[а] Разделен действием на рацемат *d*-винной кислоты [30].

[б] Разделен действием на рацемат *l*-α-фенилэтиламина [14].

[в] Разделен действием на рацемат *l*-α-фенилэтиламина [14]. *dl*-α-Фенилэтиламин ранее был разделен на антиподы с помощью ацетил-L-лейцина—реагента, применимого для оптического разделения ряда других аминов [14—16] и легко получаемого ацетилированием доступного L-лейцина.

Таблица 7

Оптическое разделение производных рацемических аминокислот

Производное аминокислоты	Нерастворимый изомер	Разделяющий агент для нерастворимого изомера	Растворимый изомер	Разделяющий агент для растворимого изомера	Литература
Бензоилаланин	D	Бруцин	—	—	13, 37–40
»	L	Стрихнин	—	—	8, 37–40
Дибензилаланин [а]	L	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
»	D	D-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
Дибензоил-β-аминоаланин	L	Хинидин	—	—	41
То же	D	Хинин	—	—	41
α-Аминотрикарбаллиловая кислота в виде пирролидонового производного	L	Бруцин (2 моля)	D	Бруцин	28
Бензоиласпарагиновая кислота	L	Бруцин (2 моля)	—	—	13
То же	D	Бруцин (1 моль)	—	—	13
Бензоилбутирин	L	Морфин	—	—	42
»	D	Бруцин	—	—	42
Дибензилбутирин	L	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
»	D	D-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
Формилкаприлин	D	Бруцин	—	—	43
Диацетилцистин	D	»	—	—	44
Диформилцистин	D	Стрихнин	—	—	45
N-Формил-S-бензилцистеин	D	Бруцин	—	—	46
Ацетил-3,5-дибромтирозин	L	*l*-Фенилэтиламин	—	—	14
То же	D	*d*-Фенилэтиламин	—	—	14
Бензоил-2,5-диоксифенилаланин	L	*l*-Фенилэтиламин	—	—	47
Бензоил-2,5-диоксифенилаланин (диметоксипроизводное)	D	*d*-Фенилэтиламин	—	—	47
Ацетил-3,4-диоксифенилаланин (диацетоксипроизводное)	D	Бруцин	L	Бруцин	48
Бензоил-3,4-диоксифенилаланин (3-окси-4-метоксипроизводное)	L	Цинхонин	D	Цинхонин	49
Бензоилглутаминовая кислота	D	Стрихнин (2 моля)	L	Стрихнин	13
Глутаминовая кислота в виде пирролидонового производного	D	Хинин	L	Хинин	50
N-Тозилпирролидонкарбоновая кислота [б]	D	Бруцин	L	Бруцин	25
Формил-S-бензилгомоцистеин	D	»	L	»	51
Формилгомосерин (О-фенильное производное)	D	Стрихнин	L	Стрихнин	52
n-Нитробензоилгомосерин	L	Бруцин	D	Бруцин	53
Фенилизоцианооксипролин	L	Хинин	D	Хинин	54, 55
3,5-Динитробензоилоксипролин	L	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	19
То же	D	D-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	19
Фенилизоциано-*алло*-оксипролин	L	Хинин	D	Хинин	54, 55
Формилизолейцин	L	Бруцин	D	Бруцин	56, 57
Ацетилизолейцин	D	*l*-Фенхиламин	L	*l*-Фенхиламин	58
Формил-*алло*-изолейцин	L	Бруцин	D	Бруцин	56, 57
Ацетил-*алло*-изолейцин	L	Хинин	D	Хинин	58
Формилизовалин	L	Бруцин	—	—	59
Формиллейцин	D	»	L	Бруцин	60
Ацетиллейцин	D	*l*-Фенхиламин	L	*l*-Фенхиламин	58
Дибензиллейцин	L	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
»	D	D-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
Формил-*трет*-лейцин	D	Бруцин	L	Бруцин	61
Формилметионин	D	»	L	»	62, 63
Ацетилметионин	D	*l*-Фенхиламин	L	*l*-Фенхиламин	34
Метиловый эфир метионина	L	α-Бром-*d*-камфор-π-сульфокислота	D	α-Бром-*d*-камфор-π-сульфокислота	64

Продолжение табл. 7

Производное аминокислоты	Нерастворимый изомер	Разделяющий агент для нерастворимого изомера	Растворимый изомер	Разделяющий агент для растворимого изомера	Литература
Метиловый эфир метионина	L	α-Хлор-*d*-камфор-γ-сульфокислота	D	α-Хлор-*d*-камфор-γ-сульфокислота	65
Амид метионина	L	*d*-Винная кислота	D	*d*-Винная кислота	66
Ацетилнорлейцин	D	*l*-Фенхиламин	L	*l*-Фенхиламин	58
Формилнорвалин	D	Бруцин	L	Бруцин	67
Дибензилнорвалин	L	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
»	D	D-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
Ацетилнорвалин	L	*d*-α-Фенилэтиламин	—	—	68
»	D	*l*-α-Фенилэтиламин	—	—	68
Формилпенициллямин (изопропилиденовое производное)	D	Бруцин	—	—	69, 70
Формилфенилаланин	D	»	L	Бруцин	71, 72
Бензоилфенилаланин	D	Цинхонин	—	—	42
Ацетилфенилаланин	D	*l*-Фенхиламин	L	*l*-Фенхиламин	16
»	D	Бруцин	L	Бруцин	73
Ацетил-*n*-нитрофенилаланин	L	»	D	»	74
Формил-γ-фенилбутирин	D	»	L	»	73
Формил-α-фенилглицин	D	Цинхонин	—	—	75
То же	L	Хинин	—	—	75
n-Нитробензоилфенилсерин	D	*l*-Эфедрин	—	—	76
То же	L	*d*-Эфедрин	—	—	76
м-Нитробензоилпролин	D	Цинхонин	L	Цинхонин	23
3,5-Динитробензоилпролин	L	D-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	19
То же	D	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	19
n-Нитробензоилсерин	D	Хинин	(L)	(Хинин)	77
То же	L	Бруцин	—	—	77
Дибензилсерин	L	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
»	D	D-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
Фталоил-О-метилсерин [в]	D	Бруцин	L	Бруцин	78
Формилтреонин (О-метильное производное)	D	»	L	»	79
n-Нитробензоилтреонин	L	»	D	»	80
Толуолсульфонилтреонин	L	»	D	»	81
Дибензилтреонин	L	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
»	D	D-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
Формил-*алло*-треонин (О-метильное производное)	D	Бруцин	L	Бруцин	79
Формил-3,5-дииодтиронин	D	*l*-Фенилэтиламин	L	*l*-Фенилэтиламин	22
То же	L	*d*-Фенилэтиламин	D	*d*-Фенилэтиламин	22
Ацетилтриптофан	D	Хинин	L	Хинин	82
»	D	*d*-Фенилэтиламин	—	—	83
»	D	Бруцин	—	—	84
»	L	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	18
Бензоилтирозин	L	Бруцин	—	—	85
»	D	Цинхонин	—	—	85
Формилтирозин	D	Бруцин	—	—	86
Ацетилтирозин	D	»	—	—	87
Формилвалин	D	»	L	Бруцин	88
Ацетилвалин	D	*l*-Фенхиламин	—	—	16
»	L	*d*-Фенхиламин	—	—	16
Дибензилвалин	L	L-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24
»	D	D-*трео*-*n*-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3	—	—	24

[а] Бензильные группы удаляли каталитическим гидрированием.

[б] N-Тозильную группу удаляли обработкой раствором натрия в жидком аммиаке. Еще до этой стадии можно превратить L- и D-тозилпиролидонкарбоновые кислоты соответственно в N-тозил-L- и D-глутамины непродолжительным кипячением с концентрированным NH_4OH. Стадия восстановления дает, согласно описанию, чистые изомеры глутамина.

[в] Защищающие группы удаляли кипячением в смеси концентрированной HI и ледяной уксусной кислоты.

[27], хотя даже в этом случае полученные антиподы не всегда были оптически чисты.

Оптическое разделение таких амидов аминокислот, как аспарагин, требует удаления N-ацильной группы без гидролиза амидной связи. Это было осуществлено [27a] использованием α-N-карбобензоксигруппы в случае DL-аспарагина, разделенного с помощью цинхонина.

В табл. 6 перечислены методики, посредством которых были разделены рацемические аминокислоты, а в табл. 7 рассмотрено применение производных аминокислот. Приведенные в этих таблицах данные для «растворимого изомера» означают, что этот изомер был выделен из очищенной соли полученной из фильтрата, после отделения фильтрацией нерастворимой соли, а потому к перемене разделяющего агента здесь не прибегали. Обозначения «нерастворимый» и «растворимый» даны для смыслового усиления; эти понятия, конечно, относительны, а не абсолютны.

4. Диастереоизомерные производные. Интересная попытка разделения на оптические изомеры нескольких аминокислот проведена Холмсом и Адамсом [89]. Их способ заключался в обработке рацемической аминокислоты *l*-ментоксиацетилхлоридом по Шоттену — Бауману. Полученную ацилированную диастереоизомерную аминокислоту фракционно кристаллизовали из 60%-ного спирта или из смеси петролейного эфира и этилацетата (75 : 25). В достаточно чистом состоянии удалось получить только менее растворимую форму, соответствовавшую во всех случаях L-изомеру, и из этой формы *l*-ментоксиацетильную группу удаляли кипячением с бромистоводородной кислотой. Аналогичное исследование позднее предприняли Берлингоцци и его сотрудники [90], которые получили рацемические L- или D-манделиламинокислоты и с помощью фракционной кристаллизации сумели разделить диастереоизомерные производные.

5. Биологические методы. Большим достоинством методов оптического разделения с помощью биологических агентов является их оптическая специфичность. Если установлена специфичность биологического агента по отношению к аминокислотам с известной оптической конфигурацией, то его действие на аминокислоты неизвестного оптического строения может быть предсказано с достаточной уверенностью. В некоторых случаях эта специфичность не абсолютна, но лишь приближается к абсолютной. В любом случае биологические методы оптического разделения при успешном их осуществлении дают изомеры, оптическая конфигурация которых вытекает из уже самого принципа метода, что представляет с этой точки зрения заметное преимущество перед чисто химическими методиками, описанными выше. Другим преимуществом использования биологических агентов является возможность более общего методического подхода и более единообразной методики разделения.

Различные биологические методики сводятся к следующему: а) использование способности животных усваивать лишь один антипод, т. е. скармливание или введение ему рацемической аминокислоты с последующим выделением из мочи того или другого антипода [91, 92]; б) асимметрическое окисление или декарбоксилирование под действием микроорганизмов или отдельных частей тканей, причем одна из энантиоморфных форм остается незатронутой, а другая превращается в процессе обмена веществ в соответствующую α-кетокислоту или в амин; в) асимметрический синтез при действии протеазы на N-ацилированные рацемические аминокислоты, причем в наиболее благоприятных случаях в синтетической реакции с основанием принимает участие лишь L-антипод, образуя нерастворимое и, следовательно, отделяемое производное, а бо́льшая часть, если не все количество D-антипода, остается в растворе и г) асимметрический гидролиз соответствующим образом замещенных рацемических аминокислот под действием амидаз, эстераз и ацилаз, при котором гидролизуется только L-антипод и, за немногими исключениями, все продукты остаются в растворе и разделяются различными приемами.

а) Первая из этих методик имеет в связи с изложенным небольшое практическое значение, но все же применение ее Кнопом [93, 94] и позднее дю Виньо [73] внесло большой вклад в изучение метаболизма аминокислот. Хотя животное является достаточно высокопроизводительным инструментом, о чем свидетельствует современный способ прозводства D-кинуренина скармливанием кроликам D-триптофана [95], его значение в качестве разделяющего агента, как правило, ограниченно.

б) В начале этого столетия Эрлих показал, что дрожжи при обработке ими различных рацемических аминокислот изменяют только L-изомер, оставляя D-антипод нетронутым. Активность дрожжей в основном является результатом действия декарбоксилазы согласно схеме:

$$\left.\begin{array}{l}\text{L-Аминокислота}\\ \text{D-Аминокислота}\end{array}\right] + \text{Дрожжи} \begin{array}{l}\longrightarrow \text{Амин} + CO_2\\ \longrightarrow \text{D-Аминокислота}\end{array}$$

Этим путем Эрлиху удалось выделить с выходами 60—70% D-изомеры аланина [96], лейцина [96], валина [96], *алло*-изолейцина [97—100], изовалина [101], серина [101], фенилаланина [101], глутаминовой кислоты [100] и гистидина [100], вероятно, благодаря тому, что дрожжи действуют на них в процессе обмена веществ со значительно меньшими скоростями, чем на соответствующие L-формы. В случае DL-α-фенилглицина выделены препараты D-изомера, в которых показано присутствие L-формы [101]; было высказано предположение, что метаболизм L-изомера совершается гораздо быстрее, чем в случае D-формы, однако скорость его все же недостаточна для получения чистых препаратов последней. Более того, в случаях рацемических аспарагиновой кислоты, пролина и тирозина любой из этих рацематов почти полностью исчезал в ферментной среде, вовсе не давая D-изомера [100]; это заставляет предположить, что и L- и D-изомеры этих трех аминокислот усваиваются почти с равными скоростями или что D-изомеры превращаются в соответствующие L-формы (ср. с работой [102]). Бактериальные препараты, по-видимому, также могут не обладать оптической специфичностью. Так, хотя бактерии *Bacillus proteus* метаболизируют только L-изомеры лейцина, фенилаланина и метионина, они равно хорошо усваивают и L- и D-изомеры аланина и серина [103], а бактерии *Bacillus pyocyaneus* хотя и метаболизируют лишь L-изомеры лейцина, изолейцина и гистидина, в то же время изменяют оба изомера аланина, серина, тирозина и пролина [104]. Подобные же любопытные результаты получены при использовании плесеней [105].

Каковы бы ни были причины способности некоторых микроорганизмов с равным успехом атаковать как D-, так и L-антиподы некоторых аминокислот с сохранением при этом способности атаковать только L-изомеры других аминокислот (т. е. обусловлены ли эти явления наличием одной обычно L-специфичной декарбоксилазы, оптическая специфичность которой исчезает в присутствии известных D-аминокислот, или наличием наряду с L-декарбоксилазой D-декарбоксилазы, специфичной для разных аминокислот, или, наконец, присутствием рацемазы, которая превращает некоторые D-аминокислоты в соответствующие L-формы), все они относятся к области догадок и лишь служат иллюстрацией затруднений, с которыми можно столкнуться в практике оптического разделения, основанного на использовании этих биологических материалов. Новый штамм микроорганизма может породить

совершенно иной набор метаболизирующих систем, чем в старой культуре. Описано несколько случаев оптически специфичного действия некоторых микроорганизмов на рацемические аминокислоты. Так, D-изомеры лейцина [106], глутаминовой кислоты [106, 107] и норлейцина [108] получали с помощью *Penicillium glaucum*. D-изомер цистина — с помощью *Aspergillus niger* [109], D-изомер метионина — с участием *Proteus vulgaris* [110], а D-изомеры глутаминовой кислоты [111] и лизина [112] при действии соответственно *Escherichia coli* и *Bacillus cadaveris*. С другой стороны, исключительно D-специфичная декарбоксилаза моноаминодикарбоновых кислот, выделенная из *Aspergillus ustus* (f), позволяет получить чистые L-антиподы [113]. От того, насколько долго сохраняется первоначальная чистота культуры микроорганизма, может зависеть степень надежности его применения.

При необходимости использования этих методик, вероятно, лучше всего работать с истинно оптически специфичными оксидазами, выделенными из животных тканей. Оксидаза D-аминокислот почек млекопитающих и оксидаза L-аминокислот змеиного яда являются мощными энзимами с точной оптической специфичностью. Не известно пока ни одного представителя этого класса биологических катализаторов, который в заметной степени действовал бы на аминокислоту, являющуюся антиподом обычных субстратов, затрагиваемых ими [114]. За ходом энзиматической реакции чувствительного изомера можно количественно проследить, измеряя в аликвотных пробах реакционной смеси количество выделяющегося аммиака:

$$\left.\begin{array}{l}\text{L-Аминокислота}\\ \text{D-Аминокислота}\end{array}\right] + \text{Оксидаза} \xrightarrow{O_2} \text{α-Кетокислота} + NH_3 + \text{Незатрагиваемый антипод} + H_2O_2$$

Использование для рацемических аминокислот почечной D-аминокислотной оксидазы привело к получению L-изомеров аланина [115, 116], метионина [115] и пролина [117]. Если из реакционной смеси нужно выделить и α-кетокислоту, то при этом необходимо разлагать перекись водорода по мере ее образования во избежание деструкции кетокислоты до ближайшего низшего гомолога жирной кислоты. В большей части препаративных работ с помощью оксидазы D-аминокислот для этой цели обычно бывает достаточно присутствия каталазы, имеющейся в почечной ткани. При применении змеиных ядов обычно добавляют каталазу в виде очищенного энзима. Если требуется получить только антипод аминокислоты, добавление каталазы не обязательно.

Одним из важных ограничений при использовании оксидаз является тот факт, что эти энзимы действуют неодинаково быстро на все чувствительные к ним изомеры аминокислот, а на некоторые аминокислоты не действуют вовсе. Так, видимо, невозможно легко получить D-изомеры треонина или пролина при действии оксидазы L-аминокислот *Crotalus adamanteus* на соответствующие рацематы, поскольку L-изомеры этих аминокислот слишком устойчивы к ней. Так же совершенно невозможно получить L-изомеры треонина или лизина действием на их рацематы почечной оксидазы D-аминокислот, а в случае изовалина, α-метилсерина или *трет*-лейцина с помощью оксидаз нельзя получить ни одного из оптических изомеров; в изовалине и α-метилсерине отсутствует водород на α-углеродном атоме, а *трет*-лейцин в значительной степени стерически затруднен. L-Лизин и L-орнитин мало чувствительны к действию некоторых L-аминокислотных оксидаз змеиного яда, но если ацетилировать их ω-аминогруппы, то образовавшиеся соединения окисляются по свободной α-аминогруппе. Целлер и Мариц [114] впервые отметили это у ε-бензоил-L-лизина и L-цитруллина, легкое энзиматическое окисление которых находится в заметном контрасте с относительной стойкостью свободных аминокислот, чьими производными они являются.

Разные змеиные яды значительно различаются по содержанию оксидазы L-аминокислот [114, 118, 119], и субстрат, устойчивый к одному яду, может быть более чувствителен к другому. Так, L-аланин, будучи довольно устойчив к *Crotalus adamanteus*, легче затрагивается ядом *Bothrops jararaca* и весьма чувствителен к *V. lybetina* [114, 120]. L-Лизин, вполне устойчивый к *Crotalus adamanteus*, довольно чувствителен к окислению ядом *Bothrops atrox* [121], и в нашей лаборатории получены хорошие выходы чистого D-лизина в результате действия первого из указанных энзимов на ε-ацетил-DL-лизин (образовавшийся ε-ацетил-D-лизин гидролизовали затем кипячением с кислотой), а также при действии второго энзима на DL-лизин.

Для получения в конечном итоге после действия оксидазы на неустойчивый изомер аминокислоты стойкого изомера в состоянии полной оптической чистоты, очевидно, необходимо, чтобы окисление первого изомера происходило целиком. При действии L-аминокислотных оксидаз змеиного яда на L-аминокислоты реакция неизменно проходит до конца при условии, разумеется, что субстрат чувствителен к воздействию энзима. То же самое в основном верно и для почечных оксидаз D-аминокислот, за исключением трех аминокислот: фенилаланина, тирозина и триптофана. Окисление D-изомеров этих аминокислот вначале идет быстро, но в присутствии умеренных количеств энзима вскоре прекращается, немного не доходя до конца [121]. Это, вероятно, является следствием накопления соответствующей α-кетокислоты; последние, как известно, действуют ингибирующе на оксидазу D-аминокислот [122]. Добавка к реакционной смеси цианида подавляет каталазу, присутствующую в препарате оксидазы, и накапливающаяся в результате перекись водорода разлагает кетокислоты до ближайших низших гомологов жирных кислот. В случае фенилаланина продукт деструкции, фенилуксусная кислота, действует менее ингибирующе, чем α-кетокислота (фенилпировиноградная кислота), а поэтому D-антипод DL-фенилаланина полностью окисляется D-аминокислотной оксидазой. Поэтому реакция приводит к оптически чистому L-фенилаланину при условии, что а) в реакционной смеси присутствует цианид, б) в ней имеется большое количество оксидазы D-аминокислот и в) реакционную смесь освобождают от накопившихся продуктов, периодически отделяя аминокислотный субстрат перекристаллизацией и начиная с ним процесс заново [121]. В случае триптофана эффективны только условия «б» и «в» [121].

Применение оксидаз аминокислот для получения оптических изомеров аминокислот до сих пор широко не исследовалось отчасти ввиду финансовых трудностей, связанных с приобретением змеиных ядов, а отчасти из-за ограниченности этого метода, не являющегося в строгом смысле слова оптическим разделением, поскольку он ведет к получению только одного из антиподов. Если же разделить рацемический субстрат на две части и обработать одну часть оксидазой L-аминокислот и вторую — оксидазой D-аминокислот (при условии, что оба оптических изомера рацемата подвержены действию энзима,) то соответствующие антиподы можно получить с хорошими выходами и весьма чистыми [121]. Эта методика вполне пригодна для получения оптических изомеров, если в наличии имеются сравнительно небольшие количества рацемических субстратов (10 *ммолей* и меньше), как, например, в случае соединений, меченных изотопами [121]. Соответствующие данные собраны в табл. 8.

Применение оксидаз для определения оптической чистоты аминокислот описано в гл. 6. Одна часть чувствительного к энзиму изомера может быть окислена в присутствии 1000 или 10 000 частей устойчивого изомера; это показывает, насколько мало сродство последнего к энзиму. Отсюда же следует, что с помощью подходящей оксидазы можно очистить изомеры, загрязненные

Таблица 8

Оптические изомеры аминокислот, получаемые (в остатке) действием аминокислотных оксидаз на соответствующие рацематы (в граммах энзима на 10 *ммолей* субстрата) [121, 123, 124]

Рацемическая аминокислота	Оксидаза L-аминокислот из *Crotalus adamanteus*, использованная для получения D-изомера, г	Лиофилизованная оксидаза D-аминокислот, использованная для получения L-изомера, г
Аланин	0,5	0,85
Аргинин·HCl	0,8	—
Аспарагиновая кислота	0,5	—
ε-Ацетиллизин	1,0	—
Валин	0,83	0,85
Гистидин·HCl	0,23	—
Глутаминовая кислота	0,5	—
Изолейцин	0,11	2,8
ε-Карбобензоксилизин	1,0	—
Лейцин	0,10	2,0
Лизин	2,0[a]	—
Метионин	0,03	1,0
Оксипролин	—	9,0
Пролин	—	0,9
Серин	—	6,0
Тирозин	0,17	9,0
Триптофан	0,04	9,0
Фенилаланин	0,04	1,7

[a] Использовался яд *Bothrops atrox*.

своими антиподами в результате неудачного оптического разделения иными способами.

В большей части исследований с применением ядов использовался сырой материал без всякой очистки, не считая сравнительно кратковременного диализа. Сингер и Кирни [125] выделили из яда щитомордника очищенную оксидазу L-аминокислот и показали, что сравнительная эффективность препарата по отношению к группе субстратов в основном параллельна эффективности неочищенного яда. В связи с дороговизной применяемых ядов можно предложить следующий экономичный прием: если желаемый продукт, полученный действием яда, растворим, то реакционную смесь можно освободить диализом от диффундирующих веществ, и яд, остающийся в диализном мешке и сохранивший бо́льшую часть первоначальной активности, использовать снова (ср. с работой [126]).

в) Первый однозначный энзиматический синтез пептидной связи (осуществлен Бергманом и Френкель-Конратом [127] действием папаин-цистеина при pH 4.6 на смесь карбобензоксиглицина и анилина) привел к нерастворимому осадку карбобензоксиглициланилида. Основанный впоследствии на этой реакции метод оптического разделения развивался как некая побочная ветвь этих исследований. Попытки многих исследователей использовать эту синтетическую реакцию только для целей оптического разделения способны были лишь затемнить большое значение как самой реакции, так и следующих из нее биологических выводов. Принцип этой реакции в применении к оптическому

разделению аминокислот по существу таков:

1) N-Ацил-DL-аминокислота + Анилин $\xrightarrow{\text{Энзим}}$ Анилид N-ацил-L-аминокислоты (растворим) + N-ацил-D-аминокислота (растворима),

2) Анилид N-ацил-L-аминокислоты $\xrightarrow{\text{Самопроизвольно}}$ Анилид N-ацил-L-аминокислоты (осадок)

Стадия 1 определяет скорость реакции, если анилид не находится в состоянии перенасыщения [128], и поэтому скорость синтеза в значительной степени управляется скоростью энзиматического процесса при условии, что продукт синтеза практически нерастворим. Если же последний полностью растворим, то происходит обратная реакция гидролиза до достижения положения равновесия, лежащего где-то между полными синтезом и гидролизом. Именно по этой причине не проходит до конца синтез анилидов ацетилпроизводных L-аланина, L-лейцина, L-изолейцина, L-лизина, L-метионина, L-триптофана и L-валина [129]. При наличии таких условий в опыте по оптическому разделению растворимый D-компонент будет содержать большее или меньшее количество L-формы, не вступившей в синтез. Однако N-ацильная группа, введенная в рацемическую аминокислоту, не должна сообщать последней слишком большую нерастворимость, так как в противном случае: а) энзим либо не будет синтезировать анилид, либо будет это делать очень медленно, б) энзим, возможно, будет с одинаковым успехом синтезировать как L-, так и D-анилиды. Поскольку при проведении этих энзиматических реакций pH лежит в пределах 4—6, т. е. в области, где многие ацилированные аминокислоты находятся на грани перехода в нерастворимое состояние, выбор подходящей ацильной группы должен, очевидно, удовлетворять приведенным выше факторам.

Выбор подходящей N-ацильной группы по соображениям растворимости может в свою очередь вызвать трудности, связанные с антиподной специфичностью энзима. Уже первоначальные опыты в лаборатории Бергмана показали, что папаин-цистеин способен синтезировать D-анилиды [130—132], но проблему в целом осветили систематические работы, проведенные впоследствии Ниманом с сотрудниками, а также Милном и Стивенсом [133]. Исследуя влияние различных N-ацильных групп на оптический ход энзиматического синтеза с использованием фенилгидразина вместо анилина, они нашли, что синтезированный продукт, выпавший в осадок, имел почти нацело L-конфигурацию, если N-ацилом служила ацетильная группа; если же в качестве ацильной группы брали бензоил, то образовывалось также небольшое количество D-гидразида. Если ацильная группа представляла собой карбометокси-, карбэтокси-, карбобензокси- или карбаллилокси-остатки, то образовывалось значительное количество D-гидразида, почти сравнимое по величине с количеством образовавшегося L-гидразида [131—133]. Это явление происходит независимо от природы аминокислотного остатка, хотя на скорость образования D-анилида (а также L-анилида) влияют природа как N-ацильной группы, так и аминокислоты [66, 133—136].

Скорость синтеза является также функцией строения анилида [137], pH [128, 135, 138, 139] и концентрации цитратного буфера [139]. Величина pH и концентрация буфера могут не только воздействовать на максимальную скорость энзиматической реакции, но и влиять на условия, благоприятные или неблагоприятные для осаждения анилида.

Имеется заметное сходство между описанной выше двухстадийной реакцией и реакцией, происходящей при оптическом разделении с по-

мощью диастереоизомерных солей, за исключением того, что в энзиматическом процессе менее растворимая форма всегда получается из L-изомера и как производное, очевидно, отличается по строению от растворимого соединения. Однако если условия благоприятствуют энзиматическому синтезу нерастворимого производного и из растворимого D-соединения, то D-форма также осаждается вместе с L-изомером. Почти таким же путем происходит загрязнение выделяющегося сначала нерастворимого осадка соли D-диодтиронина с *l*-фенилэтиламином оптически изомерной солью [22]. Это является основным недостатком любого метода разделения, основанного на различиях в растворимости. Если процесс разделения длителен, то осадок может загрязниться более растворимой формой, если же он непродолжителен, то, по-видимому, имеет место обратная картина. Нет иного способа определения конечной точки энзиматического синтеза L-анилида, кроме отфильтровывания его, взвешивания и сравнения оптического вращения с вращением анилида, синтезированного из известного L-изомера. В конечной точке всегда происходит известное перекрывание за счет синтеза D-анилида. Все это побудило в одном из обстоятельных исследований этой проблемы [129] видоизменить методику разделения следующим образом. N-Ацилированные рацемические аминокислоты выдерживали в реакционной среде до тех пор, пока не была синтезирована бо́льшая часть L-форм; при этом предполагалось, что скорость синтеза этих форм в каждом случае гораздо больше скорости синтеза D-форм. Полученные анилиды отфильтровывали и фильтрат выдерживали еще некоторое время для совместного осаждения остатка L-анилидов и вновь образовавшихся D-анилидов. Этот осадок отбрасывали, а D-изомеры выделяли из оставшегося фильтрата.

Анилиды N-ацетил-L-аминокислот (или фенилгидразиды в случае использования фенилгидразина) чаще всего превращают в свободные аминокислоты кипячением с растворами соляной кислоты [140—144]. Поскольку анилиды весьма стойки к действию соляной кислоты, то применяют в общем 6 н. HCl, причем время кипячения составляет 10—12 *час*. Если L-соединение вначале не содержит рацемата, такая обработка во многих случаях может приводить к частичной рацемизации. В случаях, например, метионина [140] и триптофана [144], где действие соляной кислоты вызывает химические изменения, попытки выделения L-изомера этим путем требуют видоизменения или вообще неприменимы. В более поздних работах [133] фенилгидразинную группировку удаляли окислением солями трехвалентного железа, а N-анильную группу (карбобензокси- или бензилсульфонил-группу) — восстановлением.

Имеется несколько примеров успешного применения метода энзиматического синтеза для целей оптического разделения, но его нельзя рекомендовать как общий способ. В табл. 9 перечислены изомеры, полученные этим методом.

г) По методу асимметрического энзиматического гидролиза используются такие энзимы, как аргиназа печени, растительная пептидаза, эстераза и карбоксипептидаза поджелудочной железы, а также почечные ацилазы и амидазы. Все они являются почти исключительно L-специфичными ферментами, и их использование основано на асимметрическом гидролизе какой-либо группы, введенной в рацемическую аминокислоту. Все эти реакции проводят в растворах достаточно низкой концентрации, чтобы свести к минимуму или вовсе избежать обратной реакции и обеспечить нулевой порядок гидролиза. Существуют аналитические методы контроля хода этих реакций и определения конечной точки, что представляет важное преимущество данного метода. Из четырех описанных выше общих методов оптического

Таблица 9

Оптическое разделение посредством асимметрического синтеза

Аминокислота	N-Ацильная группа	Амин	Применявшийся энзим	Полученные изомеры	Литература
Лейцин	Карбобензокси	Анилин	Папаин	D	127
Глутаминовая кислота	»	»	»	D	141
3-Фортиронин	Бензоил	»	»	L и D	142
Метионин	Карбобензокси	»	»	L[а]	140
»	Бензоил	»	Фицин	L[а]	136
»	Бензилсульфонил	Фенилгидразин	Папаин	L и D	133
Лизин	α,ε-Дикарбобензокси	Анилин	»	L	143
»	α,ε-Ди-*н*-капроил	»	»	L и D	134
»	α,ε-Дибензоил	»	Фицин	L и D	136
Триптофан	Карбобензокси	»	Папаин	D	144
Аланин	Бензоил	»	»	L и D	129
Изолейцин	Изобутирил	»	»	L	129
Лейцин	Изобутирил	»	»	L	129
Метионин	»	»	»	L и D	129
Фенилаланин	»	»	»	L	129
Серин	Карбобензокси	»	»	L	129
Лизин	α,ε-Диизобутирил	»	»	L	129
Треонин	Каприл	»	»	L	129
S-Бензилгомоцистеин	Ацетил	»	»	L и D	145
α-Амино-β-окси-*н*-капроновая кислота (*трео*-)[б]	Бензоил	*п*-Толуидин	Папаин	L и D	146
α-Амино-β-окси-*н*-капроновая кислота (*эритро*-)[б]	»	»	»	L и D	146
о-, *м*- и *п*-Фторфенилаланин	Ацетил	Фенилгидразин	»	L и D	147

[а] Выделен из реакционной смеси в виде S-бензилгомоцистеина, превращенного затем в метионин восстановлением и метилированием.
[б] Разделена в виде О-метильных производных.

разделения этим преимуществом обладает еще только метод «б» с использованием оксидаз.

Действие аргиназы печени на DL-аргинин приводит к D-аргинину наряду с L-орнитином [148, 149]. Аргиназа не действует на D-аргинин [150], следовательно, по отношению к этим объектам она обладает почти абсолютной оптической специфичностью. Выделяющаяся мочевина может служить для измерения степени протекания реакции. Гидролиз α-карбоксамидной группы под влиянием папаина в диамидах карбобензокси-DL-α-глутаминовой кислоты [151] и карбобензокси-DL-α-аминоадипиновой кислоты [152] ведет соответственно к карбобензокси-L-глутамину и карбобензокси-L-гомоглутамину.

Варбург отметил [153], что панкреатин, тщательно освобожденный от липазы (с этилбутиратом в качестве субстрата), быстро и асимметрично действует на пропиловый эфир DL-лейцина и дает L-лейцин. Отмечено также, что препараты панкреатина, из которых не удалена липаза, вызывают

также некоторый гидролиз эфира D-аминокислоты. Действие панкреатина было распространено на получение D-тирозина из этилового эфира DL-тирозина [154] и на получение L- и D-метионинов из изопропилового эфира соответствующей рацемической аминокислоты. В последнем случае полученные вначале загрязненные изомеры очищали через их соли с β-нафталинсульфокислотой [155, 156]. Аналогичная очистка использована для L- и D-изомеров триптофана, полученных действием кристаллического химотрипсина на метиловый эфир DL-триптофана [157]. Вретлинд [158] применил экстракт порошка поджелудочной железы для оптического разделения изопрочилового эфира DL-фенилаланина, причем за ходом реакции следили с помощью формольного титрования. Выпавший L-фенилаланин очищали перекристаллизацией. D-Фенилаланин получен гидролизом D эфира (выделенного экстракцией эфиром) соляной кислотой с последующими нейтрализацией и перекристаллизацией.

Подобным же образом получен D-валин из рацемического изобутилового эфира [158]. Применимость этого способа как общей методики оптического разделения довольно ограниченна не только из-за возможности самопроизвольного гидролиза сложных эфиров в условиях разделения (ср. с работой [159]), но также вследствие склонности некоторых эфиров аминокислот полимеризоваться в присутствии химотрипсина и образовывать эфиры высших пептидов [160]. В таких случаях часть эфира рацемической аминокислоты асимметрично гидролизуется до L-аминокислоты, а другая часть одновременно полимеризуется в эфир соответствующего пептида. Это наблюдается для изопропиловых эфиров DL-метионина, DL-треонина и DL-фенилаланина, тогда как метиловый эфир DL-триптофана претерпевает только асимметричный гидролиз, по-видимому, не образуя пептидов.

В последние годы наиболее обширные исследования оптического разделения аминокислот проведены с помощью ацилаз и амидаз аминокислот, выделенных из животных и растительных источников. Начало этим исследованиям было положено в 1881 г., когда Шмидеберг впервые наблюдал способность водных экстрактов почек каталитически гидролизовать гиппуровую кислоту до бензойной кислоты и глицина [161]. Несколько позже Смородинцев [162] сделал два важных открытия, а именно: а) каталитически действующая функция тканей, называвшаяся тогда гиппуриказой, воздействует только на N-бензоил-L-аминокислоты, но не на соответствующие D-антиподы, и б) гидролизуются только α-замещенные аминокислоты. Впоследствии Мори [163] и Нава [164] показали возможность гидролиза под действием этого энзима не только бензоильной, но и других N-ацильных групп. Учитывая наблюдение Смородинцева об очевидной оптической специфичности данного энзима, Нейберг и Лингарт в 1924 г. [165] предположили, что эта специфичность может быть положена в основу методики оптического разделения рацемических аминокислот. Взяв в качестве субстрата бензоил-DL-аланин и растительный продукт такадиастазу как источник вышеприведенного энзима, они наблюдали почти 50% гидролиза взятого рацемата спустя 4 *суток* инкубации; из фильтрата был выделен бензоил-D-аланин, охарактеризованный по температуре плавления. Выпадение L-аланина из такой реакционной смеси завершалось после двухнедельной инкубации [166]. Сравнительно недавно Нейберг и Мандль [167] разделили ацетил-DL-триптофан 11-суточной инкубацией под влиянием растительного продукта, названного «ортозим». Растительные пептидазы, по крайней мере при использовании в неочищенном виде, очень мало активны.

В лаборатории авторов разработан очень простой и вместе с тем широко применимый общий метод оптического разделения почти всех извест-

ных аминокислот, основанный на наблюдении, что водные экстракты почек быстро и полностью гидролизуют один из изомеров ацетил-DL-аланина [168] (рис. 2). Первой стадией этого метода является очистка почечного фермента, гидролизующего N-ацилированные α-аминокислоты и названного для простоты ацилазой. Для очистки в качестве субстрата был применен N-ацетил-DL-аланин [169]. Найдено, что из всех испытанных до сих пор N-ацильных групп N-ацетильная и N-хлорацетильная группы гидролизовались наиболее быстро, причем гидролизу подвергался лишь L-изомер

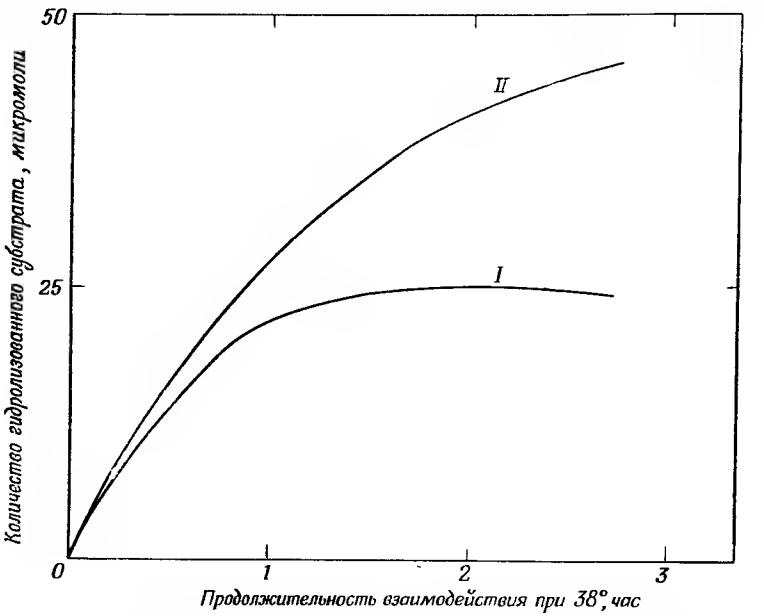


Рис. 2. Гидролиз под действием водного экстракта из почек крыс при pH 7,5 [168].

I — хлорацетил-DL-аланин; *II* — глицил-DL-аланин. Концентрация субстрата равна 50 *мкмолям*.

[170]. Неустойчивость препарата фермента привела к необходимости разработать новый метод его получения, дающий весьма устойчивый и активный материал, концентрация которого по активности была примерно в 30 раз выше концентрации неочищенного гомогената. Получены ацетильные и хлорацетильные производные большинства известных аминокислот и подвергнуты действию как неочищенного гомогената, так и очищенной ацилазы в оптимальных условиях, т. е. при pH 7,0 [171]. В ходе этого исследования сделаны следующие наблюдения: а) бо́льшая часть N-ацилированных аминокислот чувствительна к действию ацилазы, за исключением немногих соединений, почти совершенно устойчивых к ее воздействию; б) N-ацилированные производные аспарагиновой кислоты, тирозина и триптофана гидролизуются со скоростями либо меньшими, либо несколько большими, чем при гидролизе с неочищенным гомогенатом, тогда как все другие ацилированные аминокислоты, чувствительные к ферменту, гидролизуются со скоростями, превышающими примерно в 30 раз скорости гидролиза с учас-

тием гомогената. Второе явление заставляет предположить, что гомогенат содержит ряд ацилаз; это подтверждается и тем, что из другой фракции почечного гомогената был получен препарат, высоко активный по отношению к аспарагиновой кислоте, но с уменьшенной активностью по отношению к другим N-ацилированным аминокислотам. Фракция гомогената почек, активная в отношении подавляющего большинства N-ацилированных алифатических аминокислот, была обозначена как ацилаза I, фракция, активная только по отношению к N-ацилированной аспарагиновой кислоте,— как ацилаза II и фракция, активно действующая на N-ацилированные ароматические аминокислоты, например тирозин, фенилаланин, триптофан и β-фенилсерин,— как ацилаза III [171, 172]. Соли кобальта оказывают заметное активирующее влияние на ацилазу I, но не влияют на ацилазу II [172]. Использование кобальта при оптическом разделении с участием ацилазы I, вероятно, может сократить время процесса. В некоторых случаях, однако, ион металла активирует энзиматический гидролиз D-изомера N-ацилированного соединения (например, аланина), поэтому прежде, чем использовать соли металлов в процессе оптического разделения, следует исключить возможность такого процесса. Так, например, в случае ацетилизолейцина [173] D-изомер устойчив к ацилазе I как в присутствии, так и в отсутствие Co^{2+}.

В целях оптического разделения N-ацетилированные или хлорацетилированные субстраты можно разделить на следующие категории: а) субстраты, имеющие алифатические остатки и чувствительные к почечной ацилазе I, б) субстраты типа аспарагиновой кислоты и чувствительные к почечной ацилазе II, в) субстраты с ароматическими остатками, вероятно, чувствительные к почечной ацилазе III и, как было найдено, весьма чувствительные к панкреатической карбоксипептидазе, и г) субстраты, содержащие пролин, оксипролин, *трет*-лейцин, α,ε-диаминопимелиновую кислоту, 3,5-диподтирозин, додецилин, оба стереомера β-фенилсерина и оба стереомера α-аминотрикарбаллиловой кислоты, которые полностью или почти не чувствительны ко всем испытанным почечным и панкреатическим ацилазам. Проблема получения оптических изомеров устойчивых соединений группы «г» методами асимметрического энзиматического гидролиза была решена следующим образом. Рацемические пролин [174], *трет*-лейцин [175], додецилин [159] и α,ε-диаминопимелиновая кислота [176] были превращены в амиды и разделены на оптические антиподы действием фракции амидазы из почек свиньи, причем амидаза, подобно описанным выше ацилазам, действовала на L-изомеры. (Эта методика с участием амидаз приложима также к оптическому разделению многих аминокислот наравне с разделением с помощью ацилаз [154, 177, 178], но, где это возможно, следует предпочесть ацилазный метод.) Оба стереомера β-фенилсерина были превращены в N-трифторацетильные производные, которые, как оказалось, быстро и асимметрично гидролизуются панкреатической карбоксипептидазой [179]. Эпимеризацией L-оксипролина кипячением со смесью ледяной уксусной кислоты и уксусного ангидрида [180] была получена смесь, содержащая D-*алло*-форму, и эту смесь превращали по методу Нейбергера [181] соответственно в L-*алло*-оксипролин и D-оксипролин [180]. Не поддаются разделению энзиматическим путем только ацилированные диподтирозин и α-аминотрикарбаллиловая кислота. Последняя в конце концов была разделена на четыре оптически активных стереомера с помощью различных алкалоидов [28]. За этими исключениями, метод асимметрического энзиматического гидролиза был с успехом применен для оптического разделения около 60 рацемических аминокислот по следующей схеме:

$$\left.\begin{matrix}\text{L-RCONHCHR'CO}_2\text{H}\\ \text{D-RCONHCHR'CO}_2\text{H}\end{matrix}\right] \xrightarrow[\text{Карбоксипептидаза}]{\text{Ацилаза}} \begin{matrix}\text{L-NH}_2\text{CHR'CO}_2\text{H} + \\ + \text{RCO}_2\text{H} + \\ + \text{D-RCONHCHR'CO}_2\text{H}\end{matrix} \quad \begin{matrix}\text{(нерастворима в органических растворителях)}\\ \\ \text{(растворима в органических растворителях)}\end{matrix}$$

$$\left.\begin{matrix}\text{L-NH}_2\text{CHR'CONH}_2\\ \text{D-NH}_2\text{CHR'CONH}_2\end{matrix}\right] \xrightarrow{\text{Амидаза}} \begin{matrix}\text{L-NH}_2\text{CHR'CO}_2\text{H} \\ + \text{NH}_3 + \\ + \text{D-NH}_2\text{CHR'CONH}_2\end{matrix} \quad \begin{matrix}\text{(нерастворима в органических растворителях)}\\ \\ \text{(растворим в органических растворителях)}\end{matrix}$$

где R = H, CH_3 и т. д. Кислотный гидролиз соответствующих ацилированных D-аминокислот или амидов D-аминокислот ведет к D-аминокислотам:

$$\text{D-RCONHCHR'CO}_2\text{H или D-NH}_2\text{CHR'CONH}_2 \xrightarrow[\Delta]{\text{H}^+} \text{D-NH}_2\text{CHR'CO}_2\text{H} + \text{RCO}_2\text{H (или NH}_3\text{)}.$$

Одним из достоинств этой методики является применимость ее к получению обоих оптических изомеров. Некоторые аминокислоты на последних стадиях их синтеза уже находятся в виде N-ацильных производных, т. е. в состоянии, пригодном для оптического разделения. При надлежащих навыках эту методику можно приспособить к оптическим разделениям в очень малом масштабе, что является весьма ценным обстоятельством в тех случаях, когда неприменимы методики с участием оксидаз.

Ацилазы почек менее чувствительны к природе группы R, чем панкреатическая карбоксипептидаза [171, 182, 183]. Так, многие трифторацетил-L-аминокислоты гидролизуются почечной ацилазой I со скоростями, приблизительно вдвое превышающими скорости гидролиза хлорацетилированных аминокислот и примерно в восемь раз превышающими скорости гидролиза ацетилированных аминокислот, тогда как действие панкреатической карбоксипептидазы на L-аминокислоты, несущие те же N-заместители, отличается соответственно примерно в 30—200 и в 2000—3000 раз [171, 182, 183].

Из большого числа ацетиламинокислот, изученных в условиях, приближающихся к условиям оптического разделения, лишь D-изомер ацетилметионина заметно гидролизуется ацилазой I [171]; отношение скоростей гидролиза ацетил-L-метионина и ацетил-D-метионина, взятых порознь, составляет примерно 10 000 : 1 [171]. В присутствии эквивалентного количества L-метионина энзиматическое действие ацилазы I на ацетил-D-метионин весьма значительно тормозится (до одной четверти первоначальной скорости). Поскольку действие этого фермента на ацетил-L-метионин заметно не изменяется в присутствии ацетил-D-метионина, т. е. скорости гидролиза эквимолярной смеси ацетил-L-метионина и ацетил-D-метионина почти одинаковы, можно ожидать, что количество D-метионина, образовавшегося при гидролизе ацетил-DL-метионина, будет гораздо меньше, чем наблюдается при аналогичной обработке одного ацетил-D-метионина. Оказалось, что это действительно так, и поэтому можно принять, что отношение скоростей гидролиза ацетил-L-метионина и ацетил-D-метионина близко к 40 000 : 1; подобное же, если не большее, соотношение скоростей существует для антиподов N-ацильных производных других аминокислот при действии фермента на их рацематы.

Однако если N-ацильной группой является трифторацетил, то для некоторых аминокислот наблюдаются иные результаты. Фонс и Ли [182] нашли, что отношения скоростей гидролиза под влиянием почечной ацилазы I N-трифторацетильных производных чистых L- и D-изомеров составляют: для аланина около 80, для бутирина примерно 800, для норвалина около 150, для норлейцина около 50 и для метионина приблизительно 3. Хотя эти отношения при гидролизе рацематов, вероятно, имеют бо́льшую величину, все же результаты показывают, что трифторацетильный радикал не

является подходящим заместителем для рацемических аминокислот при их оптическом разделении почечной ацилазой I. С другой стороны, панкреатическая карбоксипептидаза, по-видимому, заметно не действует на D-изомеры N-трифторацетил-β-фенилсеринов [179], и поэтому применение данного заместителя оправданно, по крайней мере при разделении этой аминокислоты.

При оптическом разделении производных всех рацемических аминокислот методом асимметрического гидролиза начальная концентрация субстрата составляет 0,10 *M* или меньше для обеспечения нулевого порядка реакции и полного завершения энзиматического гидролиза L-компонента [171]. (Если требуется только L-изомер, можно начать разделение с 1 *M* или более крепким раствором ацетил-DL-аминокислоты, дать реакции пройти как можно дальше, удалить L-аминокислоту, рацемизовать оставшуюся ацетил-D-аминокислоту и вести процесс заново.) За исключением тех случаев, когда L-аминокислота выпадает из реакционной среды по мере гидролиза ее производного, за ходом гидролиза следят, измеряя манометрически количество выделяющегося CO_2 при реакции с нингидрином (или при гидролизе амидов с помощью карбоксипептидазы определяют количество аммиака). Реакционную смесь после достижения теоретических 50% гидролиза оставляют еще на непродолжительное время, добавляя иногда свежий фермент, чтобы гарантировать полноту гидролиза L-формы. Конечную точку гидролиза в гетерогенных смесях приближенно определяют измерением скоростей в более разбавленных растворах.

Продукты реакции разделяют двумя способами, пользуясь различной растворимостью, и с помощью ионообменных смол. В первом случае чистая L-аминокислота выпадает сама по себе, либо ее осаждают добавлением этилового спирта к депротеинизированной концентрированной реакционной смеси. Фильтрат концентрируют и, если использовался ацилазный метод, концентрат доводят до pH 1,7, а ацил-D-аминокислоту экстрагируют сухим этилацетатом. При использовании амидазного метода концентрированный фильтрат доводят до pH 11—12 и амид D-аминокислоты экстрагируют хлороформом; в качестве альтернативной обработки амиды карбобензоксилируют прямо в подщелоченной реакционной смеси, получая нерастворимый карбобензокси-D-амид и растворимую щелочную соль карбобензокси-L-аминокислоты [174, 177]. Для хроматографического разделения применяют ионообменные смолы дауэкс-50 (по 2 *мэкв* аланина, метионина, валина, аспарагиновой кислоты, изовалина, серина или орнитина на 1 *мл* смолы в колонке) и амберлит XE-64 (по 10 *мэкв* пролина, гистидина, *трет*-лейцина или аргинина на 1 *мл* смолы) [184]. Ацил-D-аминокислоты вымывают из смолы водой; затем соляной кислотой, концентрация которой определяется природой применяемой смолы и особенно свойствами выделяемой аминокислоты, вымывают L-аминокислоты. В случае амидов L-аминокислоту вымывают водой, а затем разбавленной соляной кислотой вымывают D-амид [176, 184].

Конечные продукты — оптические изомеры свободных аминокислот — подвергают испытанию на оптическую чистоту, которую считают приемлемой лишь в случае примеси антипода менее 0,1%. Критерии чистоты описаны в гл. 6. Различные исходные соединения, используемые для разделения, например ацилированные аминокислоты или амиды аминокислот, а также их характеристики приведены в табл. 10.

Исследование гидролиза с помощью почечной ацилазы I N-хлорацетильных замещенных аминокислот с прямой цепью от L-аланина до L-додецилина выявило, что с максимальной скоростью гидролизуется хлорацетил-L-норвалин [159, 123, 205]. При окислении гомологических свободных L-аминокислот с помощью оксидазы L-аминокислот из *Crotalus adamanteus* максимальная скорость также наблюдается в случае норвалина. При действии оксидазы D-аминокислот на свободные изомеры D-аминокислот скорость окисления падает в ряду C_3-, C_4-, и C_5-аминокислот, затем последовательно возрастает для C_6- и C_7-аминокислот и, наконец, вновь падает с ростом длины цепи вплоть до D-додецилина, который в применяемых условиях, видимо, инертен [123].

6. Растительные ацилазы. Выше уже говорилось о применении Нейбергом и Мандлем [167] такадиастазной ацилазы для оптического разделения ацетил-DL-триптофана. Несмотря на то что значительная часть процессов разделения с участием N-ацилированных рацемических аминокислот была проведена с применением почечных ацилаз, не следует упускать из виду и это более раннее исследование Нейберга и Мандля, поскольку использованный ими субстрат легко доступен (он является одним из промежуточных соединений в синтезе триптофана) и, кроме того, почти совершенно не восприимчив к действию любых изученных ацилаз животных тканей. За последние годы интересные исследования в области растительных ацилаз были предприняты в Японии, в основном Мичи [206—208] и Чибата [209, 210]. Мичи и его сотрудники культивировали ряд штаммов *Aspergillus* и *Penicillium* и из некоторых организмов выделили и очистили ацилазу, асимметрически действовавшую при оптимальном pH 7,5 на все испробованные N-ацилированные рацемические аминокислоты. Подобно почечной ацилазе I, растительный фермент сильно активировался в присутствии ионов Co^{2+}. В отличие от почечной ацилазы I, этот фермент гидролизовал в одних и тех же условиях N-ацилированные ароматические аминокислоты быстрее соответствующих N-ацилированных алифатических аминокислот, приближаясь в этом к панкреатической карбоксипептидазе. Так, очищенная растительная ацилаза гидролизовала ацетил-L-фенилаланин или ацетил-L-триптофан почти вдвое быстрее, чем ацетил-L-метионин, в четыре раза быстрее, чем ацетил-L-аланин, и в десять раз быстрее, чем ацетил-L-глутаминовую кислоту. Данные табл. 10 подчеркивают разницу в сравнительном действии животных ацилаз и данного фермента. Что касается триптофана, то растительная ацилаза легко гидролизует его ацетильное производное; панкреатическая карбоксипептидаза легко гидролизует N-хлорацетильное производное, но мало или вовсе не действует на N-ацетильное производное, тогда как почечная ацилаза I слабо действует или вообще не действует ни на N-хлорацетильное, ни на N-ацетильное производные. Поэтому введение в обиход очищенных растительных ацилаз (ср. с работой [21]) резко увеличило возможности методов оптического разделения, основанных на простом асимметрическом гидролизе, применительно к таким субстратам, как N-ацилированные триптофаны, использование которых до этих пор было довольно затруднительно. Мичи и его сотрудникам удалось оптически разделить триптофан, фенилаланин, метионин, лейцин, аланин и валин [206—208]; Чибата и сотрудники [209, 210] осуществили разделение α-ацетил-ε-бензоил-DL-лизина — субстрата, обычно вполне устойчивого к действию почечной ацилазы I. Ни в одном из исследованных случаев чистая N-ацил-D-аминокислота не была чувствительна к действию какой-либо из этих растительных ацилаз.

7. Оптическое разделение α-метиламинокислот. Хотя L- и D-стереонаправленное действие различных описанных выше биологических агентов можно в общем использовать как для получения оптически активных изоме-

Таблица 10

Оптическое разделение аминокислот асимметрическим гидролизом

DL-Аминокислота	Производное	Т. пл. производного, °С	Использованный энзим	Скорость гидролиза L-формы производного[а]	Литература
Аланин	Ацетильное	136	Ацилаза I	3 200	171
»	Хлорацетильное	126	То же	11 600	171
Аллилглицин	Ацетильное	114	»	8 300	185
α-Аминоадипиновая кислота	Хлорацетильное	129	»	45	186
β-Аминоаланин	α,β-Диацетильное	181	»	708	187
γ-Аминобутирин	α,γ-*бис*-хлорацетильное	128	»	60	188
α-Аминопимелиновая кислота	Ацетильное	112	»	—	176
Аргинин	Ацетильное с $2H_2O$	266	»	410	189
Нитроаргинин	Ацетильное	204	»	28	120
Аспарагиновая кислота	»	150	Ацилаза II	27	171
То же	Хлорацетильное	149	То же	142	171
S-Бензилцистеин	Ацетильное	157	Ацилаза I (неочищенная)	28	120
S-Бензилгомоцистеин	Ацетильное	115	Ацилаза I (неочищенная)	29	190
S-Бензилпенициллами	Амид·HBr	228	Амидаза	—	191
Бутирин	Ацетильное	132	Ацилаза I	9 500	171
»	Хлорацетильное	128	То же	33 600	171
Каприлин	»	93	»	7 700	171
β-Циклогексилаланин	»	142	»	350	192
γ-Циклогексилбутирин	»	126	»	132	171
α-Циклогексилглицин	»	175	»	4 600	192
Цистин	Диацетильное	121	»	10	191
Цистин	*бис*-Хлорацетильное	—	»	37	173
Децилин	Хлорацетильное	92	»	120	193
α,ε-Диаминопимелиновая кислота	Амид·2HCl	Разлагается	Амидаза·Mn^{2+}	75	176
Додецилин	Амид·HCl	228	То же	—	159
Этионин	Ацетильное	91	Ацилаза I	15 400	171
Глутаминовая кислота	»	185	То же	3080	171
То же	Хлорацетильное	123	Ацилаза I	12 700	171
» »	Карбобензоксильное	117	То же	28	194
Гептилин	Хлорацетильное	106	»	28 200	193
Гистидин	Ацетильное с $1H_2O$	148	»	150	120
Гомосерин	Хлорацетильное	79[б]	»	12 600[в]	190
γ-Оксиглутаминовая кислота	Хлорацетильное (лактон)	173	Ацилаза I·Co^{2+}	50[в]	195
алло-γ-Оксиглутаминован кислота	То же	185	То же	30[в]	195
δ-Оксилизин	α-Хлорацетил-ε-карбобензоксильное	152	Ацилаза I[г]	<5[в]	196
алло-δ-Оксилизин	То же	145	То же[г]	<5[в]	196
ε-Оксинорлейцин	Хлорацетильное	91	Ацилаза I	10 000	197
δ-Оксинорвалин	»	104	То же	23 800	197
Изолейцин	Ацетильное	116	Ацилаза I·Co^{2+}	1 010	173, 198
алло-Изолейцин	»	168	То же	570	173,198
Изолейцин+*алло*-изолейцин[д]	»	150	»	1 010	173,198
Изовалин	Ацетильное	167	Ацилаза I·Co^{2+}	0,1	121
»	Хлорацетильное	163	Ацилаза I	38	199
Лейцин	Ацетильное	159	То же	5 400	171
»	Хлорацетильное	142	»	16 500	171
трет-Лейцин	Амид·HCl	337[е]	Амидаза·Mn^{2+}	12	175
Лизин	α,ε-Диацетильное	141	Ацилаза I	4	188
»	α,ε-*бис*-Хлорацетильное	103	То же	140	171

Продолжение таблицы 10

Аминокислота	Производное	Т. пл. производного, °С	Использованный энзим	Скорость гидролиза L-формы производного [а]	Литература
Метионин	Ацетильное	112	Ацилаза I	24 200	171
»	Хлорацетильное	92	»	100 000	171
β-Метиласпарагиновая кислота	Ацетильное	182	Ацилаза II	4	Неопубликованные данные
S-Метилцистеин	»	153	Ацилаза I	9 500	То же
α-Метилсерин	Хлорацетильное	121	То же	20	200
Нонилин	»	89	»	1 600	193
Норлейцин	Ацетильное	105	»	14 400	171
»	Хлорацетильное	116	»	30 400	171
Норвалин	Ацетильное	115	»	9 800	171
»	Хлорацетильное	101	»	40 500	171
Орнитин	α,δ-*бис*-Хлорацетильное	105	»	304	201
β-Фенилаланин	Ацетильное	146	»	138	171
β-Фенилаланин	Хлорацетильное	130	Ацилаза I	460	171
»	»	130	Карбоксипептидаза (неочищенная)	—	202
α-Фенилглицин	»	127	Ацилаза I	4 500	192
β-Фенилсерин	Трифторацетильное	161	Кристаллическая карбоксипептидаза	1 100	179
алло-β-Фенилсерин	»	150	То же	800	179
Пролин	Амид (свободный)	99	Амидаза·Mn^{2+}	7	174
Серин	Ацетильное	132	Ацилаза I	4 960	Неопубликованные данные
Серин	Хлорацетильное	123	То же	11 600	171
β-Тиенилаланин	»	128	Карбоксипептидаза (неочищенная)	—	203
Треонин	»	124	Ацилаза I	720	171
О-Метилтреонин [ж]	»	115	То же	25	119
алло-Треонин	»	91	»	2 580	204
О-Метил-*алло*-треонин [з]	»	109	»	3 320	119
Триптофан	»	154	Карбоксипептидаза (неочищенная)	—	202
Тирозин	Хлорацетильное	158	Карбоксипептидаза (неочищенная)	—	202
Ундецилин	»	92	Ацилаза I	9	193
Валин	Ацетильное	148	То же	1 660	171
»	Хлорацетильное	132	»	4 970	171

[а] Концентрация субстратов 0,016 *М*. Начальные скорости реакций даны в микромолях L-изомера, гидролизовавшегося в 1 *час* на 1 *мг* белкового N при 38°. Ацилированные субстраты находились при pH 7,0, амиды — при pH 8,0. Все L-формы рацематов были полностью гидролизуемы.

[б] В виде γ-лактона.

[в] В виде свободной ацилированной аминокислоты.

[г] В виде δ-лактона.

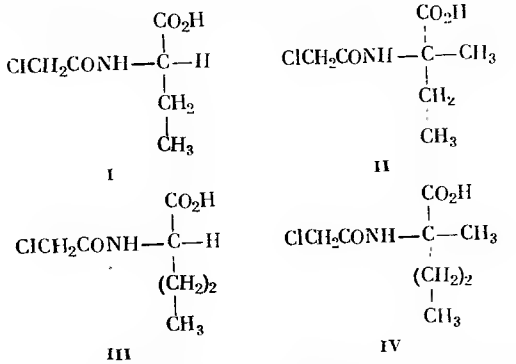
[д] Энимерная смесь равных количеств L-изолейцина и D-*алло*-изолейцина.

[е] В запаянном капилляре.

[ж] Ацетильное производное с т. пл. 153° гидролизуется ацилазой I со скоростью 8 [119].

[з] Формильное и ацетильное производные с т. пл. 154 и 155° соответственно гидролизуются ацилазой I со скоростями 55 и 730 [119].

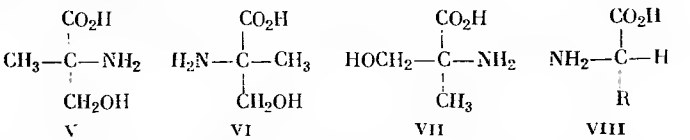
ров аминокислот типа $RCH(NH_2)CO_2H$, так и для установления стереохимической конфигурации каждого из антиподов, полученных таким путем, применение этих агентов для подобных целей большей частью ограничено только субстратами, имеющими атом водорода при асимметрическом α-атоме углерода. При этом следует иметь в виду, что аминокислоты, обладающие α-алкильным заместителем вместо α-атома водорода, не чувствительны к действию как оксидаз аминокислот, так и декарбоксилаз. То, что такие жесткие требования к структурной специфичности не являются характерным свойством, присущим всем биологическим агентам, используемым для разделения, явствует уже из исследований Эрлиха и Венделя [101], показавших, что предпочтительное усвоение растущими дрожжами (+)-изовалина позволяет выделить из культуральной среды (—)-изовалин в результате переработки рацемической аминокислоты. В более поздней работе [199] было выяснено, что из обеих энантиоморфных форм хлорацетил-DL-изовалина только одна чувствительна к L-направленному гидролитическому действию ацилазы I из почек свиньи; показано, что аналогичное явление имеет место и для соответствующего ацетильного производного [121]. Во всяком случае, это открытие сделало возможным как оптическое разделение этой аминокислоты, так и отнесение ее (—)- и (+)-антиподов соответственно к D- и L-конфигурациям [199]. Однако при этом следует отметить, что введение алкильного заместителя в α-положение приводит к резкому уменьшению скорости гидролиза. Так, энзиматическое расщепление хлорацетил-L-α-амино-*н*-масляной кислоты (I), содержащей α-атом водорода, протекает примерно в 900 раз быстрее расщепления структурно близкого хлорацетил-L-изовалина (II), в котором место атома водорода предыдущего субстрата занимает α-метильная группа [2]. Аналогичное явление наблюдается для хлорацетил-L-норвалина (III), скорость гидролиза которого во много раз больше, чем для соответствующего его α-метильного аналога — хлорацетил-α-амино-α-метил-*н*-валериановой кислоты (IV), гидролизующейся весьма медленно [205].



Рассмотренное явление касается ацилированных α-метиламинокислот типа $RC(CH_3)(NH_2)CO_2H$. В случае α-метилсерина имеет место несколько иная, менее ясная картина. Эта аминокислота встречается как компонент бактериального пептида и обладает $[\alpha]_D$ около +6° (в воде). Рацемическое соединение легко образует N-хлорацетильное производное с т. пл. 121° [200], которое гидролизуется почечной ацилазой I при pH 7, расщепляющей около 20 *мкмолей* L-формы в 1 *час* на 1 *мг* белкового N; эту скорость можно сравнить со скоростью расщепления в этих же условиях хлорацетилсерина, равной 11 600. При попытке разделить хлорацетил-DL-α-метилсерин с помощью

ацилазы I Фонс в нашей лаборатории столкнулся с затруднениями, поскольку гидролиз рацемата хотя и проходил на 50% теории, но в реакционной смеси было обнаружено значительное количество неорганического хлора, причем реакционная смесь постепенно становилась все более кислой, требуя, для поддержания нужного pH, частого добавления разбавленной щелочи; очевидно, в нейтральной среде происходит отщепление хлористого водорода от хлорацетил-α-метилсерина. Для хлорацетилсерина в таких же условиях подобного явления совершенно не наблюдается.

Самопроизвольное отщепление HCl от N-хлорацетиламинокислот в нейтральной среде имеет место, как известно, не только для N-хлорацетил-α-метилсерина, но также и для α, β-*бис*-хлорацетиламиноаланина, хлорацетилпролина и хлорацетил-N-метилаланина [187]. В конечном итоге действие ацилазы I на такие соединения в тщательно соблюдаемой нейтральной среде приводит к чистому D-, но не к L-изомеру. Так, в опытах Фонса [200] был получен α-метил-D-серин, идентичный по свойствам продукту бактериального происхождения, а соответствующий L-изомер имел значительно более низкое удельное вращение. Несмотря на затруднения, вызываемые лабильностью хлорацетильного остатка, с помощью L-специфичной ацилазы I можно установить оптическую конфигурацию оптических антиподов α-метилсерина, причем правовращающей (V) и левовращающей (VI) формам аминокислоты можно приписать соответственно D- и L-конфигурации. Изображение (—)-α-метилсерина, как α-метил-L-серина (VI), а не α-оксиметил-L-аланина (VII)



в соответствии с обычным способом Фишера, следует из того [205], что в α-метил-L-α-аминокислоте α-метильная группа занимает то же положение, что и α-атом водорода в L-аминокислоте (VIII).

Пытаясь обойти трудности, возникающие при оптическом разделении N-хлорацетил-α-метилсерина, Парих в нашей лаборатории получил соответствующее ацетильное производное (т. пл. 150°) и подверг его действию почечной ацилазы I при pH 7 в присутствии 0,001 *M* Co^{2+} (скорость равна 0,3) и без него (скорость составляет 0,04). В отличие от хлорацетильного производного оба оптических изомера ацетильного производного гидролизовались энзимом как в присутствии, так и в отсутствие Co^{2+} с почти равными скоростями, и по окончании процесса был почти количественно выделен чистый α-метил-DL-серин. Следовательно, почечная ацилаза I, обычно действующая исключительно L-специфично, действует на этот субстрат полностью оптически неспецифично. Выше уже упоминалось об уменьшении L-специфичности этого фермента в случае трифторацетил-D-метионина, но приведенный пример является первым известным случаем, когда эта специфичность совершенно теряется. Отсюда ясно, что хотя действие ацилазы I на α-метил-α-ациламинокислоту может иногда быть использовано для установления оптической конфигурации и для целей оптического разделения применимость ее в этих случаях не носит общего характера.

8. Методы с применением хроматографии на бумаге. Попытки разделения оптических антиподов рацемата на поверхности оптически активного твердого материала были впервые предприняты Вильштеттером [212], который

Таблица 11

Способы разделения стерических изомеров аминокислот (нормальных и *алло*-форм или рацемических и *мезо*-форм)

Соединение	Форма, использованная для разделения	Метод разделения	Форма, выделенная первой	Литература
DL-α-Аминотрикарбаллиловая кислота — DL-*алло*-аминотрикарбаллиловая кислота	α, β-Пирролидондикарбоновые кислоты	Кристаллизация солей с хинином из метанола	*алло*-Производные	28
DL-Цистатионин — L-*алло*-цистатионин	Первоначальная смесь аминокислот	Кристаллизация из аммиака	L-*алло*-Цистатионин	228
L-Цистатионин — L-*алло*-цистатионин	То же	Кристаллизация из разбавленной кислоты	L-Цистатионин	228
DL-Цистин — *мезо*-цистин	Хлористоводородные соли	Перекристаллизация из соляной кислоты	DL-Цистин·2HCl	229
DL-α, ε-Диаминопимелиновая кислота — *мезо*-α, ε-диаминопимелиновая кислота	Амиды	Реакция с амидазой и затем хроматография на колонке	L-Аминокислота	176
β-Окси-DL-глутаминовая кислота (А) — β-окси-DL-глутаминовая кислота (Б)	Хлоргидраты этиловых эфиров	Перекристаллизация из спирта	Форма А	230
DL-Оксилизин — DL-*алло*-оксилизин	α-Хлорацетамидо-ε-карбобензоксикапролактоны	Перекристаллизация из этилацетата	Производное DL-оксилизина	196
D-Оксилизин — D-*алло*-оксилизин	Первоначальная смесь аминокислот	Адсорбция и элюирование на дауэкс-50	D-Оксилизин	231
DL-Оксипролин — DL-*алло*-оксипролин	Медные соли	Перекристаллизация из воды	Соль DL-оксипролина	55
L-Оксипролин — D-*алло*-оксипролин	Первоначальная смесь аминокислот	Перекристаллизация из водного спирта	D-*алло*-Оксипролин	180
То же	То же	Адсорбция и элюирование на дауэкс-50	L-Оксипролин	231
DL-Изолейцин — DL-*алло*-изолейцин	» »	Перекристаллизация из водного спирта	DL-Изолейцин	57
То же	N-Ацетильные производные	Перекристаллизация из разбавленной уксусной кислоты	Ацетил-DL-*алло*-изолейцин	58, 198
DL-Изолейцин DL-*алло*-изолейцин	Натриевые соли	Перекристаллизация из низших спиртов	Натриевая соль DL-изолейцина	232
D-Изолейцин — D-*алло*-изолейцин	Первоначальная смесь аминокислот	Адсорбция и элюирование на дауэкс-50	D-*алло*-изолейцин	231
L-Метионин — *dl*-сульфоксид	Соли с пикриновой кислотой	Перекристаллизация из водного метанола	L-Метионин-*d*-сульфоксид	233
β-Фенил-DL-серин — *алло*-β-фенил-DL-серин	Первоначальная смесь аминокислот	Выделение из реакционной смеси	β-Фенил-DL-серин	234, 235
O-Метилфенил-DL-серин (А) — O-метилфенил-DL-серин (Б)	N-Бензоильные производные	Кристаллизация солей с β-фенилэтиламином из этилацетата	DL-(А)-производное	236
O-Метилфенил-DL-серин (А) — O-метилфенил-DL-серин (Б)	N-Карбобензоксипроизводные	То же	DL-(А)-производное	236
β-Тиол-DL-бутирин (А) — β-тиол-DL-бутирин (Б)	N-Бензоил-S-бензил-производные	Кристаллизация солей с β-фенилэтиламином из смеси этилацетат — спирт	DL-(А)-производное	237
DL-Треонин — DL-*алло*-треонин	Натриевые соли	Кристаллизация из спирта	Натриевая соль DL-треонина	238
То же	Первоначальная смесь аминокислот	Адсорбция и элюирование на дауэкс-50	DL-Треонин	239
» »	N-Бензоильные производные	Кристаллизация солей с β-фенилэтиламином из этилацетата	Бензоил-DL-треонин	236
O-Метил-DL-треонин — O-метил-DL-*алло*-треонин	То же	То же	Бензоил-O-метил-DL-*алло*-треонин	236
То же	» »	Перекристаллизация из различных растворителей	То же	79
» »	N-Формильные производные	То же	Формил-O-метил-DL-треонин	79
DL-Треонин — DL-*алло*-треонин	N-Бензоильные производные	» »	Бензоил-DL-*алло*-треонин	79
То же	Первоначальная смесь аминокислот	Кристаллизация из 90%-ного спирта	DL-*алло*-треонин	79
γ-Окси-DL-глутаминовая кислота — *алло*-γ-окси-DL-глутаминовая кислота	Хлористоводородные соли	Кристаллизация из HCl	*алло*-Форма в виде лактона	195
Октопин — изооктопин	Пикраты	Кристаллизация из воды	Октопин	240
5-Окси-DL-пипеколиновая кислота — *алло*-5-окси-DL-пипеколиновая кислота	Смесь аминокислот	Хроматография на бумаге с растворителем коллидином — лутидином	Медленнее движущийся компонент является *алло*-формой	241

смешивал шерсть с водными растворами кокаина и атропина. При этом, однако, не наблюдалось селективной адсорбции какой-либо оптически активной формы. Более поздними исследованиями Адамса и его сотрудников [213, 214], а также других авторов [215, 216] было выяснено отсутствие в сколько-нибудь заметной степени селективной адсорбции шерстью или белками из других животных тканей стереоизомерных красителей, имеющих в составе α-фенилглицин. Были отмечены затруднения, связанные с применением белков для этой цели [217].

Успешное разделение различных аминокислот на бумаге привело к мысли о возможности использования этого материала для целей оптического разделения. Мэйсон и Берг [95] показали, что на ватмане № 1 при применении смеси растворителей, состоящей из 4 объемов метанола и *н*-бутанола, бензола и воды (по 2 объема каждого), L-кинуренин мигрировал несколько быстрее D-кинуренина, а DL-кинуренин давал два флуоресцирующих пятна одного и того же цвета. Аналогично, Долглайш [218] наблюдал, что D-кинуренин перемещался на ватмане № 4 с растворителем — смесью бутанола, уксусной кислоты и воды — со скоростью, составляющей 0,9 скорости перемещения L-кинуренина. В случае 2,5-диоксифенилаланина L-изомер двигался несколько медленнее D-изомера, в отличие от поведения соответственных изомеров кинуренина [219]. Для рацематов 2,3- и 2,5- диоксифенилаланина, а также для рацемата 3,4-диокси-2-метилфенилаланина на бумажной хроматограмме появлялось по два пятна одинакового размера, формы и интенсивности с отношениями R_F (L : D), равными 0,9. С другой стороны, в этих же условиях для рацемического 3,4-диоксифенилаланина и его 5-метилзамещенного при проявлении нингидрином было получено только одно пятно.

Эти исследования были развиты Лэмбуем [220], который показал, что на ватмане № 1 и с растворителем — смесью бутанола, воды и уксусной кислоты — отношения R_F для L- и D-антиподов составляют 0,97 для 2,3-, 0,94 для 2,5-, 0,95 для 3,5- и 0,96 для 2,4-диоксифенилаланина. В согласии с результатами Долглайша, для 3,4-диоксипроизводного было найдено только одно пятно. Клосс и Хог [221, 222] наблюдали, что в основном в тех же условиях L-форма триптофана перемещалась явно медленнее D-формы, напоминая в этом отношении скорее диоксифенилаланин, нежели кинуренин. С другой стороны, монохлоргидрат DL-гистидина при обработке смесью метанол—вода (3 : 1) на ватмане № 4 дал два пятна, причем пятно, принадлежащее L-изомеру, продвигалось примерно в 1,13 раза быстрее пятна D-изомера [222]. Диастереомеры оксипролина и 5-оксипипеколиновой кислоты отчетливо разделяются на бумаге, и во взятом основном растворителе *алло*-форма в обоих случаях движется медленнее [223].

До недавнего времени некоторая способность к разделению на оптические изомеры на бумаге обнаруживалась лишь для аминокислот с циклическими заместителями, и однозначное оптическое разделение рацемата аминокислоты было осуществлено только для изомерных 3-сульфонилтирозинов. Котаке, Сакан, Накамура и Сено [224] показали в своем важном сообщении, что оптическое разделение *l*- и *d*-изомеров этой аминокислоты на бумаге тойо № 2 не зависит от оптического характера растворителя, исключая тем самым эффекты распределения. Эти изомеры отличались по величине R_f на 0,21, направление же и численное значение этой величины были одними и теми же, брался ли в качестве растворителя *l*-, *d*- или *dl*-метил-(β-фенилизопропил)-амин или растворитель был оптически неактивным вследствие его симметричности (бутанол — уксусная кислота, лутидин). После нанесения на бумагу рацемата изомерные 3-сульфотирозины вымывали из бумаги

и разделяли с помощью *l*-растворителя. Полученные значения $[\alpha]_D^{13}$ составляли в 2 *н*. NaOH соответственно —4,1 и +4,5°.

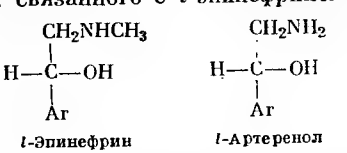
Возможность применения методов хроматографии на бумаге к некоторым алифатическим аминокислотам была показана на необычном примере α,ε-диаминопимелиновой кислоты [225]. Это симметричное соединение содержит два асимметрических атома углерода и существует в трех стереоизомерных формах, а именно в виде L-, D- и *мезо*- или L-D-конфигурации. На ватмане № 1 в системе метанол — вода — пиридин (80 : 20 : 20) эта смесь разделяется на два отчетливо различимых компонента — L-изомер и на перекрывающие друг друга D- и *мезо*-изомеры. Это свойство оказалось полезным при отделении L-формы от *мезо*-формы в мутанте из *Escherichia coli* [226]. Этот эффект, очевидно, специфичен именно для α,ε-диаминопимелиновой кислоты, поскольку ее гомологи — α,δ-диаминоадипиновую кислоту и α, ξ-диаминопробковую кислоту — не удается разделить на отдельные компоненты с помощью хроматографии в смеси метанол — вода — пиридин. Сообщается о частичном оптическом разделении нескольких N-бензоил-DL-аминокислот и ароматических N-ацетиламинокислот на колонках из крахмала [227].

9. Разделение стерических изомеров. Эта проблема заключается в разделении диастереоизомерной пары соединений, отличающихся конфигурацией у α- или ω-углеродных атомов. Для этой цели использовались два общих физических метода, а именно различия в растворимости и распределительная или ионообменная хроматография. На стр. 94 — 95 приведена сводка основных методов разделения разных аминокислот (табл. 11).

Хроматография на бумаге использовалась для того, чтобы различить рацемические формы фенилсерина и *алло*-фенилсерина; применялся ватман № 4, свернутый в виде цилиндра, и смесь *н*-бутанол — вода — ацетон — гидроокись аммония [234]. В этих условиях (восходящий растворитель) R_F фенил-DL-серина равнялось 0,43; R_F *алло*-фенил-DL-серина — 0,28. Эта методика была использована для определения эффективности различных методов разделения рацемических диастереомеров.

Разделение *трео*- и *эритро*-форм различных рацемических фенилсеринов, гидроксилированных в ядре, на ватмане № 1 в смеси растворителей изопропанол — ледяная уксусная кислота — вода легло в основу изучения конфигурации как этих соединений, так и фармакологически важных аминов, полученных из них по реакциям энзиматического декарбоксилирования [242] (см. табл. 12).

Во всех случаях величина R_F (*трео*-) была меньше R_F (*эритро*-) [242, 243]. L-Форма *трео*-β-3,4-диоксифенилсерина энзиматически декарбоксилируется до *l*-артеренола, связанного с *l*-эпинефрином следующим образом:



l-Эпинефрин *l*-Артеренол

Поскольку β-углерод в родоначальной L-аминокислоте имеет D-конфигурацию, можно предположить, что декарбоксилирование происходит без инверсии и что и эпинефрин, и артеренол можно отнести к D-формам.

Вероятно, можно считать, что разделение на бумаге рацемических диастереомеров всех испытанных в этом отношении аминокислот отчетливо происходит в случае фенилсеринов [234, 242] и оксипролинов [223] и в сравнительно ограниченной степени — для треонинов [234, 245]. Так, на ват-

Таблица 12

Значения R_F фенилсеринов и соответствующих аминов [242][a]

Фенилсерин	R_F	Амин	R_F
трео-3,4-Диокси-	0,18	Артеренол	0,51
эритро-3,4-Диокси-	0,25	—	—
трео-3-Окси-	0,31	α-(Аминометил)-3-окси-бензиловый спирт	0,67
эритро-3-Окси-	0,40	—	—
трео-4-Окси-	0,30	α-(Аминометил)-4-окси-бензиловый спирт	0,65
эритро-4-Окси-	0,37	—	—
трео-4-Нитро-	0,47	—	—
эритро-4-Нитро-	0,52	—	—
трео-4-Хлор-	0,56	—	—
эритро-4-Хлор-	0,62	—	—
трео-	0,43	α-(Аминометил)-бензиловый спирт	0,73
эритро-	0,49	—	—

[a] Относительно экспериментальных условий см. в тексте.

мане № 1 со смесью растворителей, состоящей из циклогексиламина, воды, метилэтилкетона и *н*-бутанола (1 : 2,5 : 5 : 5), значения R_F треонина и *алло*-треонина равны 0,54 и 0,41 [245].

ЛИТЕРАТУРА

1. Dunn M. S., Rockland L. B., Advances in Protein Chem., 3, 296 (1942).
2. Greenstein J. P., Advances in Protein Chem., 9, 121 (1954).
3. Neuberger A., Sanger F., Biochem. J., 38, 125 (1944).
4. Pitt Rivers R., Lerman J., J. Endocrinol., 5, 223 (1948).
5. Piutti A., Compt. rend., 103, 134 (1886).
6. Duschinsky R., Chem. & Ind. (London), 1934, 10; Festschrift Emil Christoph Barell, Basel, 1936.
7. Velluz L., Amiard G., Bull. soc. chim., 20, 903 (1953); Amiard G., Bull. soc. chim., 23, 447 (1956).
8. Weinhouse S., Milington R. H., J. Biol. Chem., 175, 995 (1948).
9. Wood J. L., Gutman H. R., J. Biol. Chem., 179, 535 (1949).
10. Arnstein H. R. V., Hunter G. D., Muir H. M., Neuberger A., J. Chem. Soc., 1952, 1329.
11. Keston A. S., Udenfriend S., Cannan R. K., J. Am. Chem. Soc., 71, 249 (1949).
12. Kögl F., Halberstadt J., Barendregt T. J., Rec. trav. chim., 68, 387 (1949).
13. Fischer E., Ber., 32, 2451 (1899).
14. DeWitt H. D., Ingersoll A. W., J. Am. Chem. Soc., 73, 5782 (1951).
15. Ingersoll A. W., DeWitt H. D., J. Am. Chem. Soc., 73, 3360 (1951).
16. Overby L. R., Ingersoll A. W., J. Am. Chem. Soc., 73, 3363 (1951); Overby L. R., J. Org. Chem., 23, 1393 (1958).
17. Controulis J., Rebstock M. C., Crooks H. M., J. Am. Chem. Soc., 71, 2463 (1949).

18. Velluz L., Amiard G., Heymès R., Bull. soc chim., 20, 904 (1953).
19. Velluz L., Amiard G., Heymès R., Bull. soc. chim., 21, 1015 (1954).
20. Velluz L., Amiard G., Heymès R., Bull. soc. chim., 21, 38 (1954).
21. Berg C. P., J. Biol. Chem., 115, 9 (1936).
22. Harington C. R., Biochem. J., 22, 1429 (1928).
23. Fischer E., Zemplén G., Ber., 42, 2989 (1909).
24. Velluz L., Amiard G., Heymès R., Bull. soc. chim., 22, 201 (1955).
25. Rudinger J., Czurbova H., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 19, 386 (1954).
26. Langenbeck W., Zimmerman G., Chem. Ber., 84, 524 (1951); Langenbeck W., Herbst O., Chem. Ber., 86, 1524 (1953).
27. Losse G., Chem. Ber., 87, 1279 (1954); Losse G., Jeschkeit H., Chem. Ber., 90, 1275 (1957); Losse G. et al., Chem. Ber., 91, 2410 (1958).
27a. Berlingozzi S., Adembri G., Ghelardoni M., Gazz. chim. ital., 88, 9 (1958).
28. Greenstein J. P., Izumiya N., Winitz M., Birnbaum S. M., J. Am. Chem. Soc., 77, 707 (1955).
29. Triem G., Ber., 71, 1522 (1938).
30. Radke F. H., Fearing R. B., Fox S. W., J. Am. Chem. Soc., 76, 2801 (1954).
31. Pyman F. L., J. Chem. Soc., 99, 1386 (1911).
32. Emmick R. D., Hambrock K. O., Rogers A. O., Пат. США, 2536360 (1951).
33. Kearley F. J., Ingersoll A. W., J. Am. Chem. Soc., 73, 5783 (1951).
34. Wheeler G. P., Ingersoll A. W., J. Am. Chem. Soc., 73, 4604 (1951).
35. Betti M., Mayer M., Ber., 41, 2071 (1908).
36. Lukes R., Kloubek J., Blaha K., Kovar J., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 22. 286 (1957).
37. Pope W. J., Gibson C. S., J. Chem. Soc., 101, 939 (1912).
38. Pacsu E., Mullen J. W., 2nd, J. Biol. Chem., 136, 335 (1940).
39. Levy M., Palmer A. H., J. Biol. Chem., 147, 493 (1943).
40. Dunn M. S., Stoddard M. P., Rubin L. B., Bovie R. C., J. Biol. Chem., 151, 241 (1943).
41. Fischer E., Jacobs W. A., Ber., 39, 2942 (1906).
42. Fischer E., Mouneyrat A., Ber., 33, 2383 (1900).
43. Abderhalden E., Goto K., Fermentforschung, 7, 95 (1923).
44. Hollander L., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 94, 243 (1931—1932).
45. du Vigneaud V., Dorfmann R., Loring H. S., J. Biol. Chem., 98, 577 (1932).
46. Wood J. L., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 130, 109 (1939).
47. Neuberger A., Biochem. J., 43, 599 (1948).
48. Harington C. R., Randall S. S., Biochem. J., 25, 1029 (1931).
49. Vogler K., Baumgartner H., Helv. Chim. Acta, 35, 1776 (1952).
50. Hillman G., Elies A., Z. physiol. Chem., 283, 31 (1948).
51. du Vigneaud V., Patterson W. I., J. Biol. Chem., 109, 97 (1935).
52. Armstrong M. D., J. Am. Chem. Soc., 70, 1756 (1948).
53. Weiss S., Stekol J. A., J. Am. Chem. Soc., 73, 2497 (1951).
54. Leuchs H., Brewster J. F., Ber., 46, 986 (1913).
55. Leuchs H., Bormann K., Ber., 52, 2086 (1919).
56. Locquin R., Bull. soc. chim. (4), 1, 595 (1907).
57. Abderhalden E., Zeisset W., Z. physiol. Chem., 195, 121 (1931).
58. Huffman W. A. H., Ingersoll A. W., J. Am. Chem. Soc., 73, 3366 (1951).
59. Fischer E., von Grävenitz R., Ann., 406, 1 (1914).
60. Fischer E., Warburg D., Ber., 38, 3997 (1905).
61. Abderhalden E., Faust W., Haase E., Z. physiol. Chem., 228, 187 (1934).

62. Windus W., Marvel C. S., J. Am. Chem. Soc., 53, 3490 (1931).
63. Jackson R. W., Block R. J., J. Biol. Chem., 122, 426 (1938).
64. Tatsuoka S., Honjo M., Kinoshita T., J. Pharm. Soc. Japan, 71, 718 (1951).
65. Tatsuoka S., Houjo M., Miyazaki H., J. Pharm. Soc. Japan, 71, 1277 (1951).
66. Tatsuoka S., Honjo M., J. Pharm. Soc. Japan, 73, 357 (1953).
67. Abderhalden E., Kürten H., Fermentforschung, 4, 327 (1921).
68. Alaupovic P., Croat. Chem. Acta, 29, 131 (1957).
69. Chikano M., Z. physiol. Chem., 180, 149 (1929).
70. Leach B. E., Hunter J. H., Biochem. Preparations, 3, 111 (1953).
71. Fischer E., Schoeller W., Ann., 357, 1 (1907).
72. du Vigneaud V., Meyer C. E., J. Biol. Chem., 98, 295 (1932); 99, 143 (1932).
73. du Vigneaud V., Irish O. J., J. Biol. Chem., 122, 349 (1938).
74. Bergel F., Burnop V. C. E., Stock J. A., J. Chem. Soc., 1955, 1223.
75. Fischer E., Weichhold O., Ber., 41, 1285 (1908).
76. Honjo M., J. Pharm. Soc. Japan, 73, 360 (1953).
77. Fischer E., Jacobs W. A., Ber., 39, 2942 (1906); см. также Fredga A., Svensk Kem. Tidskr., 49, 124 (1937).
78. Fles D., Balenovic B., J. Am. Chem. Soc., 78, 3072 (1956).
79. West H. D., Carter H. E., J. Biol. Chem., 119, 109 (1937).
80. Zambito A. J., Peretz W. L., Howe E. E., J. Am. Chem. Soc., 71, 2541 (1949).
81. Brenner M., Rüfenacht K., Sailer E., Helv. Chim. Acta, 34, 2102 (1951).
82. Berg C. P., J. Biol. Chem., 100, 79 (1933).
83. du Vigneaud V., Sealock R. R., Van Etten C., J. Biol. Chem., 98, 565 (1932).
84. Shabica A. C., Tishler M., J. Am. Chem. Soc., 71, 3251 (1949).
85. Fischer E., Ber., 33, 3638 (1900).
86. Abderhalden E., Sickel H., Z. physiol. Chem., 131, 277 (1923).
87. Sealock R. R., J. Biol. Chem., 166, 1 (1946).
88. Fischer E., Ber., 39, 2320 (1906).
89. Holmes D. F., Adams R., J. Am. Chem. Soc., 56, 2093 (1934).
90. Berlingozzi S., Adembri G., Bucci G., Gazz. chim. ital., 84, 383 (1954); Sperimentale, 6, 1 (1955).
91. Wohlgemuth J., Ber., 38, 2064 (1905).
92. Kiyokawa M., Z. physiol. Chem., 214, 38 (1933).
93. Knoop F., Kertess E., Z. physiol. Chem., 71, 252 (1911).
94. Knoop F., Blanco J. G., Z. physiol. Chem., 146, 267 (1925).
95. Mason M., Berg C. P., J. Biol. Chem., 195, 515 (1952).
96. Ehrlich F., Biochem. Z., 1, 8 (1906).
97. Ehrlich F., Ber., 37, 1809 (1904).
98. Ehrlich F., Ber., 40, 2538 (1907).
99. Ehrlich F., Ber., 41, 1453 (1908).
100. Ehrlich F., Biochem. Z., 63, 379 (1914).
101. Ehrlich F., Wendel A., Biochem. Z., 8, 438 (1908).
102. Ehrlich F., Biochem. Z, 182, 245 (1927).
103. Bernheim F., Bernheim M. L. C., Webster M. D., J. Biol. Chem., 110, 165 (1935).
104. Webster M. D., Bernheim F., J. Biol. Chem., 114, 265 (1936).
105. Pringsheim H., Z. physiol. Chem., 65, 96 (1910).
106. Schulze E., Bosshard E., Z. physiol. Chem., 10, 134 (1886)
107. Menozzi Z., Appiani G., Gazz. chim. ital., 24, 370 (1894).

108. Schulze E., Likiernik A., Z. physiol. Chem., 17, 523 (1893).
109. Neuberg C., Mayer P., Z. physiol. Chem., 44, 498 (1905).
110. Stumpf P. K., Green D. E., J. Biol. Chem., 153, 113 (1944).
111. Camien M. N., McClure L. E., Dunn M. S., Arch. Biochem., 28, 220 (1950).
112. Neuberger A., Sanger F., Biochem. J., 37, 515 (1943).
113. Mizushima S., Sakaguchi K.-I., Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 20, 131 (1956).
114. Zeller E. A., Maritz A., Helv. Chim. Acta, 27, 1888 (1944); 28, 365 (1945).
115. Duschinsky R., Jeanneret J., Compt. rend., 208, 1359 (1939).
116. Behrens O. K., J. Biol. Chem., 141, 465 (1941).
117. Stetten M. R., Schoenheimer R., J. Biol. Chem., 153, 113 (1944).
118. Zeller E. A., Advances in Enzymol., 8, 459 (1948).
119. Winitz M., Bloch-Frankenthal L., Izumiya N., Birnbaum S. M., Baker C. G., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 78, 2423 (1956).
120. Birnbaum S. M., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 39, 108 (1952).
121. Parikh J. R., Greenstein J. P., Winitz M., Birnbaum S. M., J. Am. Chem. Soc., 80, 953 (1958), а также неопубликованные данные этой лаборатории (J. R. Parikh, W. K. Paik).
122. Frisell W. R., Lowe H. J., Hellerman L., J. Biol. Chem., 223, 75 (1956).
123. Greenstein J. P., Birnbaum S. M., Otey M. C., J. Biol. Chem., 204, 307 (1953).
124. Bender A. E., Krebs H. A., Biochem. J., 46, 210 (1950).
125. Singer T. P., Kearney E. B., Arch. Biochem., 29, 190 (1950).
126. Meister A., J. Biol. Chem., 206, 577 (1954).
127. Bergmann M., Fraenkel-Conrat H., J. Biol. Chem., 119, 707 (1937).
128. Fox S. W., Pettinga C. W., Halverson J. S., Wax H., Arch. Biochem., 25, 21 (1950).
129. Doherty D. G., Popenoe E. A., Jr., J. Biol. Chem., 189, 447 (1951).
130. Behrens O. K., Doherty D. G., Bergmann M., J. Biol. Chem., 136, 61 (1940).
131. Bennett E. L., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 72, 1798 (1950).
132. Schuller W. H., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 73, 1644 (1951).
133. Milne H. B., Stevens C., J. Am. Chem. Soc., 72, 1742 (1950); Milne H. B., Peng C.-H., J. Am. Chem. Soc., 79, 645 (1957).
134. Murachi T., Arch. Biochem. Biophys., 61, 468 (1956).
135. Albertson N. F., J. Am. Chem. Soc., 73, 452 (1951).
136. Yoneya T., J. Biochem. (Tokyo), 38, 343 (1951).
137. Waldschmidt-Leitz E., Kühn K., Z. physiol. Chem., 285, 23 (1950).
138. Fox S. W., Pettinga C. W., Arch. Biochem., 25, 13 (1950).
139. Fox S. W., Wax H., J. Am. Chem. Soc., 72, 5087 (1950).
140. Dekker C. A., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 173, 471 (1948).
141. Fruton J. S., Irving G. W., Jr., Bergmann M., J. Biol. Chem., 133. 703 (1940).
142. Niemann C., Rapport M. M., J. Am. Chem. Soc., 68, 1671 (1946).
143. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H., J. Biol. Chem., 176, 1383 (1948).
144. Hanson H. T., Smith E. L., J. Biol. Chem., 179, 815 (1949).
145. Reed L. J., Kidwai A. R., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 180, 571 (1949).
146. Adams R. T., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 73, 4260 (1951).
147. Bennett E. L., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 72, 1800 (1950).
148. Riesser O., Z. physiol. Chem., 49, 210 (1906).
149. Hunter A., Biochem., J., 33, 27 (1939).

150. Edlbacher S., Bonem P., Z. physiol. Chem., 145, 69 (1925).
151. Fruton J. S., J. Biol. Chem., 165, 333 (1946).
152. Meister A., J. Biol. Chem., 210, 17 (1954).
153. Warburg O., Z. physiol. Chem., 48, 205 (1906).
154. Abderhalden E., Sickel H., Veda H., Fermentforschung, 7, 91 (1923).
155. Brenner M., Kocher V., Helv. Chim. Acta, 32, 333 (1949).
156. Wretlind K. A. J., Acta Physiol. Scand., 20, 1 (1950).
157. Brenner M., Sailer E., Kocher V., Helv. Chim. Acta, 31, 1908 (1948).
158. Wretlind K. A. J., J. Biol. Chem., 186, 221 (1950); Acta Chem. Scand., 6, 611 (1952).
159. Baker C. G., Meister A., J. Am. Chem. Soc., 73, 1336 (1951).
160. Brenner M., Muller H. R., Pfister R. W., Helv. Chim. Acta, 33, 568 (1950).
161. Schmiedeberg O., Arch. exptl. Pathol. Pharmakol., 14, 379 (1881).
162. Smorodinzev I. A., Z. physiol. Chem., 124, 123 (1922).
163. Mori T., J. Biochem. (Tokyo), 29, 225 (1939).
164. Nawa K., J. Biochem. (Tokyo), 28, 237 (1938).
165. Neuberg C., Linhardt K., Biochem. Z., 147, 372 (1924).
166. Hoppert C., Biochem. Z., 149, 510 (1924).
167. Neuberg C., Mandl L., Enzymologia, 14, 128 (1950).
168. Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 175, 969 (1948).
169. Fodor P. J., Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 178, 503 (1949).
170. Fodor P. J., Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 182, 467 (1950).
171. Birnbaum S. M., Levintow L., Kingsley R. B., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 194, 455 (1952).
172. Rao K. P., Birnbaum S. M., Kingsley R. B., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 198, 507 (1952).
173. Marshall R., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 78, 4636 (1956).
174. Hamer D., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 193, 81 (1951).
175. Izumiya N., Fu S.-C. J., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 205, 221 (1953).
176. Work E., Birnbaum S. M., Winitz M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 77, 1916 (1955); Wade R., Birnbaum S. M., Winitz M., Koegel R. J., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 648 (1957).
177. Levintow L., Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 184, 55 (1950).
178. Tatsuoka S., Honjo M., J. Pharm. Soc. Japan, 73. 355 (1953).
179. Fones W. S., J. Biol. Chem., 204, 323 (1953).
180. Robinson D. S., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 195, 383 (1952).
181. Neuberger A., J. Chem. Soc., 1945, 429.
182. Fones W. S., Lee M., J. Biol. Chem., 201, 847 (1953).
183. Fu S.-C. J., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 76 6054 (1954).
184. Baker C. G., Sober H. A., J. Am. Chem. Soc., 75, 4058 (1953).
185. Black S., Wright N. G., J. Biol. Chem., 213, 39 (1955).
186. Greenstein J. P., Birnbaum S. M., Otey M. C., J. Am. Chem. Soc. 75, 1994 (1953).
187. Birnbaum S. M., Koegel R. J., Fu S.-C. J., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 198, 335 (1952).
188. Fu. S.-C. J., Rao K. R., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 199, 207 (1952).

189. Birnbaum S. M., Winitz M., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 60, 496 (1956).
190. Birnbaum S. M., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 42, 212 (1953).
191. Marshall R., Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 4538 (1957).
192. Rudman D., Meister A., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 74, 551 (1952).
193. Birnbaum S. M., Fu S.-C. J., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 203, 333 (1953).
194. Levintow L., Greenstein J. P., Kingsley R. B., Arch. Biochem. Biophys., 31, 77 (1951).
195. Benoiton L., Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 6192 (1957).
196. Fones W. S., J. Am. Chem. Soc., 75, 4865 (1953).
197. Berlinguet L., Gaudry R., J. Biol. Chem., 198, 765 (1952).
198. Greenstein J. P., Levintow L., Baker C. G., White J., J. Biol. Chem., 188, 647 (1951).
199. Baker C. G., Fu S.-C. J., Birnbaum S. M., Sober H. A., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 74, 4701 (1952).
200. Fones W. S., неопубликованные данные.
201. Levintow L., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 188, 643 (1951).
202. Gilbert J. B., Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 180, 473 (1949).
203. Crowe B. F., Nord F. F., J. Org. Chem., 15, 688 (1950).
204. Greenstein J. P., Levintow L., J. Am. Chem. Soc., 72, 2812 (1950).
205. Fu S.-C. J., Birnbaum S. M., J. Am. Chem. Soc., 75, 918 (1953).
206. Michi K., Nonaka H., J. Agr. Chem. Soc. Japan, 28, 343, 346 (1954).
207. Michi K., Nonaka H., Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 19, 153 (1955).
208. Michi K., Tsuda H., Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 21, 18, 235 (1957).
209. Chibata I., Watanabe A., Yamada S., Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 21, 296 (1957).
210. Chibata I., Ishikawa T., Tamada S., Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 21, 300, 304 (1957).
211. Utziuo S., Yoneya T., Murachi M., Yoshimoto S., Ann., 607, 190 (1957).
212. Willstätter R., Ber., 37, 3758 (1904).
213. Ingersoll A. W., Adams R., J. Am. Chem. Soc., 44, 2930 (1922); ср. Ingersoll A. W., J. Am. Chem. Soc., 47, 1168 (1925).
214. Brode W. R., Adams R., J. Am. Chem. Soc., 48, 2193, 2202 (1926); 63, 923 (1941).
215. Kögl F., Faber J. G., DeBoer Z. C., Rec. trav. chim., 69, 482 (1950)
216. Karush F., J. Phys. Chem., 56, 70 (1952).
217. Bradley W., Easty G. C., J. Chem. Soc., 1951, 499.
218. Dalgliesh C. E., J. Chem. Soc., 1952, 137.
219. Dalgliesh C. E., J. Chem. Soc., 1952, 3940.
220. Lambooy J. P., J. Am. Chem. Soc., 76, 133 (1954).
221. Closs K., Haug C. M., Chem. & Ind. (London), 1953, 103.
222. Weichert R., Acta Chem. Scand., 9, 547 (1955); Klingmüller V., Maier-Sihle L., Z. physiol. Chem., 308, 49 (1957).
223. Piez K. A., Irreverre F., Wolff H. L., J. Biol. Chem., 223, 687 (1956).
224. Kotake M., Saken T., Nakamura N., Senoh S., J. Am. Chem. Soc. 73, 2973 (1951).

225. Rhuland L. E., Work E., Denman R. F., Hoare D. S., J. Am. Chem. Soc., 77, 4844 (1955).
226. Hoare D. S., Work E., Biochem. J., 61, 562 (1955).
227. Krebs H., Wagner J. A., Diewald J., Chem. Ber., 89, 1875 (1956).
228. Armstrong M. D., J. Org. Chem., 16, 433 (1951).
229. Loring H. S., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 102, 287 (1933).
230. Leanza W. J., Pfister K., 3rd., J. Biol. Chem., 201, 377 (1953).
231. Piez K. A., J. Biol. Chem., 207, 77 (1954); Hamilton P. B., Anderson R. A., J. Biol. Chem., 213, 249 (1955).
232. Shabica A. C., пат. США 2456742 (1948).
233. Lavine T. F., J. Biol. Chem., 169, 477 (1947).
234. Shaw K. N. F., Fox S. W., J. Am. Chem. Soc., 75, 3417, 3421 (1953).
235. Fones W. S., J. Org. Chem., 17, 1534 (1952).
236. Carter H. E., Risser W. C., J. Biol. Chem., 139, 255 (1941).
237. Carter H. E., Stevens C. M., Ney L. F., J. Biol. Chem., 139, 247 (1941).
238. Pfister K., 3rd., Robinson C. A., Shabica A. C., Tishler M., J. Am. Chem. Soc., 71, 1101 (1949).
239. Shulgin A. T., Lien O. G., Jr., Gal E. M., Greenberg D. M., J. Am. Chem. Soc., 74, 2427 (1952).
240. Izumiya N., Wade R., Winitz M., Otey M. C., Birnbaum S. M., Koegel R. J., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 652 (1957).
241. Hegarty M. P., Australian J. Chem., 10, 484 (1957).
242. Drell W., J. Am. Chem. Soc., 77, 5429 (1955).
243. Werle E., Sell J., Biochem. Z., 326, 110 (1954).
244. Hartman W. J., Pogrund R. S., Drell W., Clark W. G., J. Am. Chem. Soc., 77, 816 (1955).
245. Hardy T. L., Holland D. O., Chem. & Ind. (London), 1952, 855; 1954, 517.

ГЛАВА 4

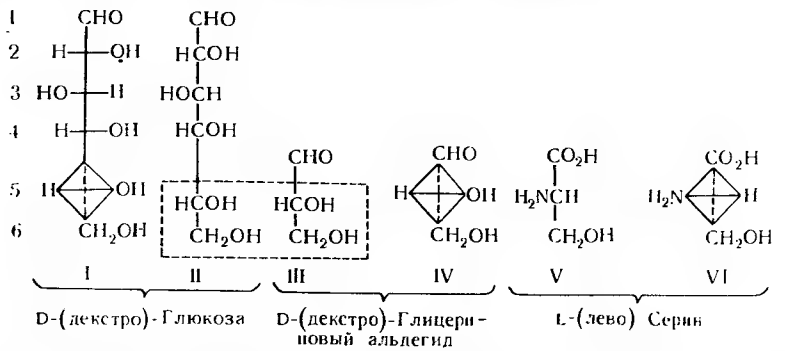
СТЕРЕОХИМИЯ АМИНОКИСЛОТ (корреляция конфигураций)

Выяснение конфигурационных зависимостей, существующих среди множества природных оптически активных соединений, становится едва ли не обязательным как в практическом, так и теоретическом отношениях. Эти сведения необходимы, например, при изучении биогенеза, механизма и специфичности ферментов, а также промежуточного метаболизма и механизма действия различных антибиотиков, антиметаболитов и лекарственных веществ. В связи с крайней важностью проблемы особенно парадоксальным является то, что до 1950 г. отсутствовали сколько-нибудь ценные сведения о конфигурационных отношениях аминокислот, например с углеводами или стероидами.

1. Стандарты отнесений. Установление *относительных конфигураций* оптически активных веществ, принадлежащих к определенной химической группе, требует сравнения с некоторыми веществами, относящимися по определению к D- или L-ряду. Другие оптически активные вещества сопоставляют затем с такими *стандартами отнесений* путем сравнения физических свойств, а также химических или биологических превращений. В качестве одного из первых стандартов в ряду углеводов Э. Фишер [1] предложил природную *правовращающую глюкозу*. Это вещество — прототип соединений D-ряда — было названо D-глюкозой. За основу для отнесений был выбран центр асимметрии, имеющий наивысший порядковый номер. Позднее Розанов [2] предложил использовать вместо глюкозы *правовращающий глицериновый альдегид*. Это более простое соединение было принято в качестве стандарта отнесений в ряду углеводов (ср. с работой [3]). Поскольку стандарты, предложенные Фишером и Розановым, приводят к одинаковым выводам относительно конфигурации оптически активных веществ, правомерно использование как одного, так и другого стандарта.

Перечисленные выше стандартные соединения можно удовлетворительно представить на схемах, применяя или упрощенные тетраэдрические изображения (I и IV) Хадсона [4], или проекционные формулы (II и III) Фишера [1]. Аналогичным образом можно изобразить и L-серин (V и VI), который вследствие большого структурного сходства с глицериновым альдегидом был принят в качестве стандарта отнесений в ряду аминокислот [5].

Правила, применяемые для выяснения конфигурации как аминокислот, так и углеводов, являются во всех отношениях принципиально идентичными, за единственным исключением, о котором будет сказано ниже. Для аминокислот, содержащих два или более асимметрических центра, т. е. для изолейцина, треонина и оксипролина, обозначение конфигурации дается по конфи-



гурации того асимметрического атома углерода, который имеет в принятой системе нумерации наименьший порядковый номер, т. е. по асимметрическому α-углеродному атому. С другой стороны, в ряду углеводов конфигурация обозначается в соответствии с конфигурацией наиболее удаленного от карбонильной группы асимметрического С-атома. Поскольку такое различие между центрами отнесений в ряду аминокислот и в ряду углеводов может иногда привести к неясностям или двусмысленностям в обозначении конфигурации, в сомнительных случаях прибегают к введению индексов *g* (если отнесение проводится к глицериновому альдегиду) или *s* (если отнесение проводится к серину) [3, 5]. Так, например, в зависимости от ряда, к которому проводится отнесение, L-треонин может быть обозначен или как L_s-треонин, или как D_g-треонин.

Поскольку величина оптической активности может широко варьировать в зависимости от длины волны, концентрации, растворителя и температуры, удельное вращение веществ, используемых в качестве стандартов отнесений, обычно выражают как $[\alpha]_D^{20-25}$ при концентрации водного раствора 5% или менее. При этих условиях право- и левовращающим формам приписывают соответственно D- и L-конфигурации. Такое написание, однако, не означает, что все соединения обязательно обладают тем же направлением вращения, что и стандартные вещества, к которым они относятся. Это видно на примере аминокислот, входящих в состав белков,— некоторые из них являются правовращающими, другие же левовращающими, но все они принадлежат к одному и тому же конфигурационному ряду.

2. Корреляция конфигураций α-аминокислот. Выяснение конфигурационных отношений между антиподами двух различных аминокислот позволяет приписать им L- или D-конфигурацию при условии, если известна конфигурация одной из них по отношению к стандартному веществу. Методы, применяемые для корреляции конфигураций оптических форм различных α-аминокислот, можно классифицировать как химические, физические и биологические.

Химические методы. Эти методы состоят в превращении оптических форм одной аминокислоты в оптические формы другой реакциями, не приводящими к разрыву связей асимметрического атома углерода с окружающими его заместителями. В качестве варианта этого метода применяются процессы синтеза и расщепления с целью превращения оптических форм различных аминокислот или в один и тот же конечный продукт или в соответствующий

им энантиомер. При этом также используются реакции, не затрагивающие α-асимметрический центр. В первую очередь именно эти классические методы структурной органической химии лежат в основе химических подходов к определению конфигурационных отношений α-аминокислот.

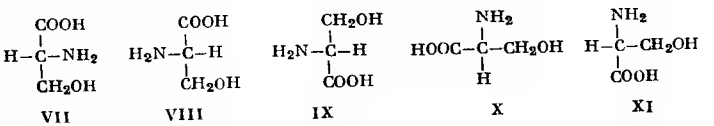
Физические методы. Эти методы основаны в значительной степени на данных об оптической активности, и в них реже используются рентгеноструктурный анализ и данные кинетики. Оптические методы заключаются или в однократном определении оптического вращения, что необходимо для установления конфигурации производных оптически активных аминокислот (например, гидантоинов, производных аминофлуорена или дегидрофенилаланина), или в двух (и больше) определениях, связанных с изучением изменений вращения под влиянием pH раствора, образования Cu-комплексов и других производных аминокислот, а также под влиянием изменения длины волны света (метод дисперсии оптического вращения). Применение рентгеноструктурных данных ограничивается главным образом определением конфигурации асимметрических ω-атомов углерода относительно α-атома в аминокислотах с двумя центрами асимметрии. Кинетические данные хотя и используются в ряде случаев для выяснения конфигурационных отношений между самими аминокислотами, все же чаще применяются для корреляции конфигураций аминокислот с другими сходными типами соединений, например α-окси- или α-бромкислотами.

Биологические методы. В основе этих методов лежит способность микроорганизмов предпочтительно использовать для своего развития лишь один из энантиомеров аминокислоты или подходящего ее производного, а также избирательная чувствительность этих соединений к ферментам. Легкость, быстрота и надежность, с которой различные стереоспецифические ферменты — ацилазы, амидазы, пептидазы, декарбоксилазы и оксидазы аминокислот — могут быть использованы для определения конфигурации аминокислот, а также доступность этих ферментов позволили в последние годы значительно расширить их применение, заменяя ими классические химические и физические методы. Использование дрожжей, плесеней и бактерий, а также высших организмов, хотя и позволяет выяснить конфигурацию аминокислот, является не только более трудоемким, но по сравнению с ферментативными методами и значительно менее общим способом.

Наконец, такие способы, как определение вкуса, токсичности или метаболизма аминокислот, могут иногда оказаться полезными для различения D- и L-форм. Однако эти физиологические тесты, несомненно, играют незначительную роль по сравнению с перечисленными выше более удобными методами. Каждый из общих методов, применяемых для корреляции конфигураций аминокислот и, когда это кажется необходимым, сходных соединений, описан более полно в последующих разделах. Особое внимание уделено тем соединениям, определение конфигурации которых представляет значительные трудности из-за наличия в их молекулах нескольких центров асимметрии. Данные, касающиеся некоторых аминокислот, содержащих два асимметрических атома углерода и представляющих особый биологический, теоретический или исторический интерес, являются предметом отдельного обсуждения.

3. Графическое изображение относительных конфигураций. Проекционные диаграммы, например проекционные формулы Фишера, очень ценны тем, что позволяют легко изобразить относительные конфигурации соедине-

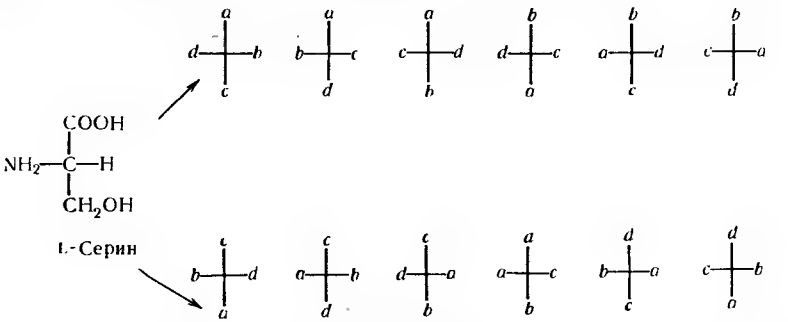
ний. Однако их применение требует высокой степени точности, поскольку нарушение принятых для этого жестких правил приводит к недоразумениям и противоречиям. Так, например, можно изобразить энантиомерные D- и L-серин соответственно проекциями VII и VIII, но однозначное определение конфигураций, представленных проекциями IX, X и XI, невозможно без введения дополнительных правил. Если принять, что вращение проекционной формулы Фишера на 90° вокруг оси, перпендикулярной плоскости чертежа (без вывода ее из этой плоскости), приводит к инверсии изображаемой ею конфигурации, то такой поворот на 180° не изменит конфигурацию. Поэтому проекции IX и X могут быть отождествлены соответственно с D- и L-конфигурациями. Этим способом, однако, нельзя установить конфигурацию, изображенную проекцией XI, не вводя еще и других правил.



Практически изображение конфигураций на плоскости выполняется на основе нескольких различных систем правил. Хотя каждая из них вполне приемлема, между собой эти системы, к сожалению, не согласованы. Здесь мы ограничимся рассмотрением лишь двух наиболее употребительных правил, которые получили название «правила жесткого тела» (rigid-body convention) и «правила перестановки» (permutation convention) (ср. с работой [6]). Третье правило — «правило квазитрехмерного пространства» (quasu-three-dimensional convention) применяется редко [7].

Согласно *правилу жесткого тела*, плоские проекции рассматриваются как жесткие тела, в которых инверсия конфигурации совершается лишь при манипуляциях, изменяющих последовательность групп или атомов, связанных с асимметрическим атомом углерода,— первоначально расположенные по направлению движения часовой стрелки, они становятся расположенными против ее движения. Например, поворот проекционной формулы L-серина (VIII) на 180° вне плоскости бумаги должен привести к инверсии конфигурации в D-форму, так как при этом группы NH_2, CO_2H, H и CH_2OH, расположенные в формуле VIII по направлению движения часовой стрелки, теперь (формула IX) располагаются в противоположном порядке. Поскольку любое вращение плоской проекционной формулы в плоскости чертежа не изменяет последовательность заместителей, оно не приводит и к изменению конфигурации. Таким образом, если следовать этому правилу, проекции VII, IX и X должны изображать D-конфигурацию. Конфигурация, изображаемая проекцией XI, остается все же неопределенной, поскольку ее нельзя получить из проекций VII или VIII, оперируя с ними как с жесткими системами.

Несколько бо́льшая гибкость в изображении конфигурационных проекций достигается применением *правила перестановок*, которое допускает перестановку пар атомов или групп, связанных с асимметрическим атомом углерода. Согласно этому правилу, однократная перестановка пары групп в проекции приводит к инверсии конфигурации, однако четное число таких перестановок не сопровождается инверсией. Четное число перестановок может тем не менее изменить вид проекции, так как при этом каждой оптической форме соответствуют двенадцать эквивалентных проекционных формул Фишера. Это можно видеть на примере L-серина.

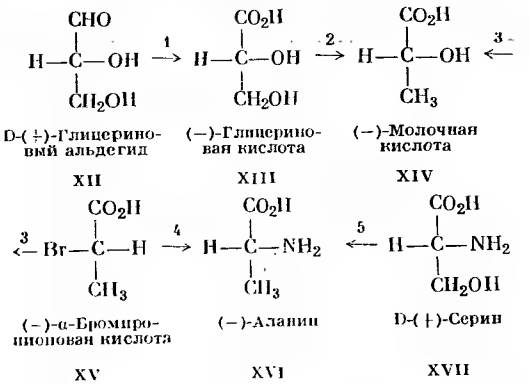


где $a = COOH$, $b = H$, $c = CH_2OH$, $d = NH_2$.

Пользуясь этим правилом, проекцию IX следует отождествить с D-, а проекцию X с L-конфигурацией. Несоответствие конфигураций, выраженных проекцией X, возникающее при использовании правил перестановок и жесткого тела, показывает, что оба эти правила не являются взаимозаменяемыми. Это же видно на примере проекции XI, которая на основании первого из этих правил изображает D-конфигурацию, а при использовании второго, как уже отмечалось выше, остается неопределенной. Поскольку правило перестановок допускает бо́льшую свободу изображения конфигурационных проекций, оно и используется в последующих разделах.

4. Корреляция конфигураций серина и глицеринового альдегида. В предыдущем разделе отмечалось, что применение химических реакций, не сопровождающихся разрывом связей данного асимметрического атома, является основным методом выяснения оптических соотношений между аминокислотами. Однако установление важных корреляций аминокислот, с одной стороны, и таких соединений, как α-окси- или α-бромкислоты — с другой, часто значительно более сложно, поскольку превращение аминокислоты в какое-либо из этих соединений всегда затрагивает изучаемый асимметрический центр. Поэтому, прежде чем сделать те или иные корреляции, необходимо выяснить, сопровождается ли образование конечного продукта оптической инверсией, сохранением конфигурации или рацемизацией. Если к тому же может быть установлен механизм реакции, то открывается путь к корреляции конфигурации энантиомеров серина и глицеринового альдегида — стандартов отнесений соответственно в ряду аминокислот и углеводов.

Новейшие кинетические исследования показали, что в случае реакций нуклеофильного замещения, протекающих по биомолекулярному механизму, всегда происходит инверсия конфигурации (вальденовское обращение). Этот вопрос более полно обсуждается в разделе 23. Здесь же достаточно отметить, что если строго доказан бимолекулярный механизм реакции замещения, затрагивающей асимметрический центр, то ее можно использовать для установления стерических зависимостей. На приведенной схеме показано, как, пользуясь этим способом, Брюстер, Хьюз, Ингольд и Рао [8] сумели убедительно доказать, что конфигурация аминокислот, входящих в состав белков, оптически изомерна конфигурации D-глицеринового альдегида [на схеме знаки (+) и (—) означают направление вращения в водном растворе]. Стадии 1, 2 и 5 были ранее осуществлены соответственно Волем и Шелленбергом [9], Фрейденбергом [10] и Фишером и Раске [11], которые пользовались методами, исключающими разрыв связей асимметрического С-ато-

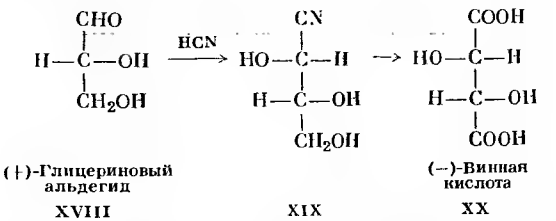


ма и поэтому не сопровождающимися изменением конфигурации. Стадии же 3 и 4 были проведены в кинетически контролируемых условиях. При этом с уверенностью можно было констатировать бимолекулярный процесс замещения, сопровождающийся вальденовским обращением [8, 12]. Следует отметить, что на приведенной схеме (—)-аланин (XVI) и (+)-серин (XVII), будучи конфигурационно сходными с D-глицериновым альдегидом, являются энантиоморфными по отношению к (+)-аланину и (—)-серину белкового происхождения. Вольфром, Лемьё и Олин [13] получили неоспоримые доводы в пользу правильности этих стереохимических отношений при изучении превращения D_g-глюкозамина в (+)-аланин. Они использовали реакции расщепления, не затрагивающие С-атом, связанный с аминогруппой.

Вышеприведенные корреляции имеют весьма важное значение, поскольку они позволяют определенным образом уравнять между собой те оптические антиподы глицеринового альдегида и серина, которые используются в качестве стандартов отнесения соответственно в ряду углеводов и аминокислот. Поскольку отнесение аминокислоты к L- или D-ряду может впредь связываться лишь с ее конфигурационным отношением к соответствующему антиподу глицеринового альдегида, нет необходимости применять L-серин в качестве независимого стандарта в ряду аминокислот.

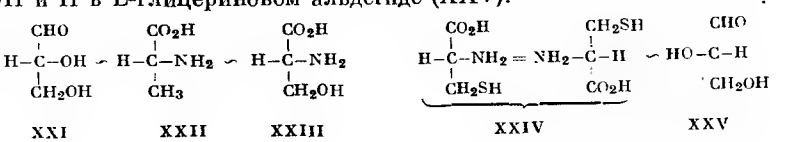
5. Абсолютные конфигурации. Хотя уже давно оказалось возможным установить связь между различными оптически активными соединениями корреляцией их с веществом, выбранным в качестве стандарта отнесений, определение абсолютной конфигурации (т. е. действительного расположения молекулы в пространстве) оставалось до недавнего времени нерешенной проблемой. Изящное исследование структуры смешанного тартрата натрия и рубидия, осуществленное Бижвутом, Пирдеманом и Ван-Боммелем [14], применившими специальную диффракционную технику, использующую фазовый сдвиг вблизи края рентгеновского поглощения, позволило непосредственно определить абсолютные конфигурации D- и L-винных кислот. Поскольку конфигурационные отношения (—)-винной кислоты (XX) и (+)-глицеринового альдегида (XVIII) были ранее выяснены исследованиями Воля и Момбера [15], то определима абсолютная конфигурация любого вещества, которое может быть сведено к этому стандарту. Определяется также и абсолютная конфигурация L- и D-аминокислот, поскольку связь их со стандартом экспериментально установлена методами, описанными в предыдущем

разделе.



По счастливому совпадению, конфигурация (+)-глицеринового альдегида, выводимая на основании правила Фишера — Розанова, соответствует абсолютной конфигурации этого соединения, установленной экспериментально. Это соответствие было независимо подтверждено в работе Вуда, Фиккетта и Керквуда [16], установивших абсолютные конфигурации (+)-2,3-эпоксибутана, (+)-1,2-эпоксипропана и (+)-1,2-дихлорпропана путем сравнения найденных и вычисленных значений оптического вращения. Данные, полученные химическими методами корреляции конфигураций, показывают, что результаты рентгеноструктурного анализа и выводы теории оптического вращения находятся в полном соответствии [17, 18]. Это позволяет надеяться, что в конечном счете конфигурации всех соединений можно будет представить как абсолютные, что даст возможность прямого сравнения оптически активных соединений. В этом случае концепция относительных конфигураций станет ненужной.

Исходя из этих соображений, Кан, Ингольд и Прелог [19] разработали общую систему стереохимической номенклатуры, учитывающую пространственное расположение заместителей вокруг асимметрического центра в трехмерных моделях. Коротко, в основе этой системы лежит *правило последовательности*, требующее, чтобы атомы, окружающие каждый асимметрический атом углерода, были расположены в порядке убывания атомного номера и совпадали по расположению соответственно с заместителями OH, CHO, CH_2OH и H в глицериновом альдегиде. Требуемое расположение заместителей может быть легко достигнуто применением *правила перестановки* (раздел 3) к соответствующей фишеровской проекции оптически активного вещества. Вместо обычно принятых обозначений конфигурации глицеринового альдегида D- и L- в этой системе применяются символы *R* и *S*. Эти символы указывают на конфигурацию данного атома углерода, который также следует обозначать буквой или цифрой. Хотя конфигурации, выведенные на основе этой системы номенклатуры, в большинстве случаев совпадают с конфигурациями, получаемыми на основе применявшихся ранее правил, все же имеются отдельные исключения. Например, согласно новой системе номенклатуры, D-глицериновому альдегиду (XXI), D-аланину (XXII), D-серину (XXIII) и большинству других D-аминокислот приписывается *R*-конфигурация, а D-цистеину (XXIV) должна быть приписана *S*-конфигурация. Это происходит потому, что последовательность заместителей NH_2, CH_2SH, CO_2H и H в этой аминокислоте, расположенных в порядке убывания атомного номера, соответствует расположению заместителей OH, CHO, CH_2OH и H в L-глицериновом альдегиде (XXV).

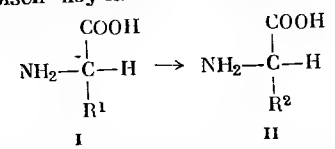


МЕТОДЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ КОРРЕЛЯЦИИ КОНФИГУРАЦИЙ АМИНОКИСЛОТ

Химические взаимопревращения аминокислот

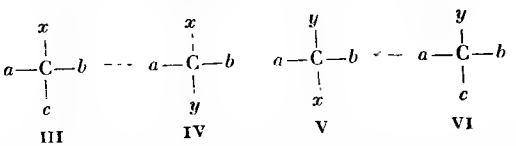
6. Общее обсуждение. Первоначальными и, по-видимому, наиболее достоверными методами, применявшимися для сведения конфигураций аминокислот, были методы синтеза и химического расщепления. Эти химические методы в отличие от физических и биохимических нельзя осуществлять по какой-либо общей схеме или стандартными приемами. Их успех зависит главным образом от способности химика наметить правильные пути перехода от одного соединения к другому, от его умения и осторожности в выборе нужных реакций среди многих, ведущих к цели, и от экспериментального искусства, с каким он доводит эти реакции до удовлетворительных результатов. Ниже систематизированы типы последовательных реакций, обычно применяемых при корреляции конфигураций аминокислот.

Взаимопревращения аминокислот. Эти реакции заключаются в превращении одной оптически активной аминокислоты (I) в другую (II) способами, не затрагивающими связей изучаемого асимметрического атома углерода.



В конечном счете они сводятся к изменению боковой цепи R^1 соединения I, приводящему к образованию боковой цепи R^2 соединения II. Впервые эти методы были успешно использованы Фишером и Раске [11] в 1907 г. для доказательства стереохимической эквивалентности L-(—)-серина и L-(+)-аланина путем превращения первой аминокислоты во вторую.

Превращение в общие продукты, обладающие антиподными конфигурациями. Суть этого метода, предложенного в 1935 г. Барроу и Фергюсоном [20], можно сформулировать следующим образом: «Если каждое из двух оптически активных соединений, C_{abcx} (III) и C_{abcy} (VI), имеющих одну и ту же конфигурацию, превратить в C_{abxy} путем преобразования общей для них группировки *c* соответственно в *y* или *x*, то два полученных соединения IV и V будут обладать антиподной конфигурацией при условии, что использованные для этого реакции не сопровождаются вальденовским обращением, т. е. не происходит разрыва связи группы *c* с асимметрическим атомом».



Этот метод был использован Барроу и Фергюсоном для стереохимической корреляции L-(+)-валина и L-(+)-аланина путем их превращения соответственно в (±)- и (—)-антиподы α-метилизобутиламина.

Поскольку корреляция конфигураций этим способом основана на значениях величин оптического вращения конечных соединений, следует применять лишь те реакции, которые не приводят к образованию рацематов или

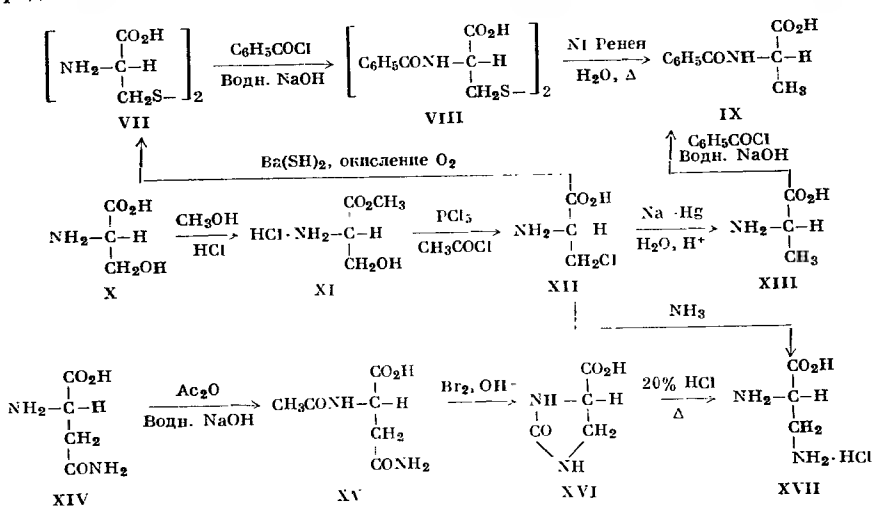
химически неоднородных продуктов. Решающим для успеха условием является тщательная очистка и характеристика всех возможных промежуточных продуктов и конечных соединений. Если эти условия соблюдены, химический подход становится наиболее результативным и однозначным из всех методов выяснения стереохимической связи аминокислот. Однако в последние годы, особенно с развитием более легких и экономически эффективных физических и биохимических методов, химические методы используются все реже, поскольку их применение требует относительно больших количеств часто труднодоступных исходных веществ и сами они весьма трудоемки. Несмотря на это, следует помнить, что именно химические методы были использованы вначале для корреляции конфигураций и именно с помощью этих методов была обоснована законность применения всех других косвенных способов стереохимической корреляции.

7. Стереохимические отношения некоторых аминокислот, входящих в состав белков. Ниже приведены химические доказательства конфигурационных зависимостей, существующих между большинством аминокислот, входящих в состав белков. Эти данные рассматриваются не обязательно в том порядке, в каком они появились в литературе, а чаще с точки зрения имеющихся в настоящее время данных о близости рассматриваемых аминокислот к L-серину. Поэтому для ряда аминокислот сначала устанавливаются корреляции с L-серином и приводятся все зависимости, которые удалось установить с этим стандартным веществом или с другой аминокислотой, для которой уже обсуждалась стереохимическая связь с L-серином. Знаки (+) и (—) в тех случаях, когда они приведены, относятся к направлению вращения для раствора в воде (за исключением специально оговоренных случаев).

Серин, аланин, цистин, аспарагин и аспарагиновая кислота. Впервые корреляция конфигураций аминокислот, по-видимому случайно, была проведена Пастером [21] в 1851 г. Он показал, что аспарагин и образующаяся из него при гидролизе аспарагиновая кислота вращают плоскополяризованный луч света соответственно влево и вправо. Однако первым исследованием, направленным специально на изучение стереохимических отношений в ряду аминокислот, было проведенное в 1907 г. исследование Фишера и Раске [11], которое показало, что заместители при асимметрических С-атомах (—)-серина и (+)-аланина, выделенных из белковых гидролизатов, обладают одинаковым расположением в пространстве. Годом позже [22] эти выводы были распространены и на (—)-цистин. Использованные в этих работах реакции состояли первоначально в превращении (—)-серина (X) в (—)-α-амино-β-хлорпропионовую кислоту (XII; $[\alpha]_D^{20}$ —15,5°, в воде) обработкой хлоргидрата метилового эфира серина PCl_5 в растворе хлористого ацетила. Далее, восстановление соединения XII амальгамой натрия в слабокислом водном растворе позволило получить (+)-аланин (XIII; хлоргидрат: $[\alpha]_D^{20}$ + 9,70°, в воде), тогда как сплавление XII с гидросульфидом бария и последующее окисление цистеина *in situ* воздухом привело к (—)-цистину (VII; $[\alpha]_D^{20}$ —209,6°, в 1 н. HCl). Правильность этих корреляций была независимо подтверждена превращением (—)-цистина (VII) и бензоил-(—)-цистина (VIII) соответственно в (+)-аланин (XIII; $[\alpha]_D^{21}$ + 13,5°, в 1 н. HCl) [23] и бензоил-(+)-аланин (IX; $[\alpha]_D^{23}$ + 9,7°, в спирте) [24] гидрогенолизом в присутствии никеля Ренея. Наконец, в 1923 г. Каррер [25] показал, что обработка (—)-α-амино-β-хлорпропионовой кислоты (XII) жидким аммиаком в течение трех суток при комнатной температуре приводит к получению хлоргидрата (±)-диаминопропионовой кислоты (β-аминоаланина; XVII). Поскольку это вещ

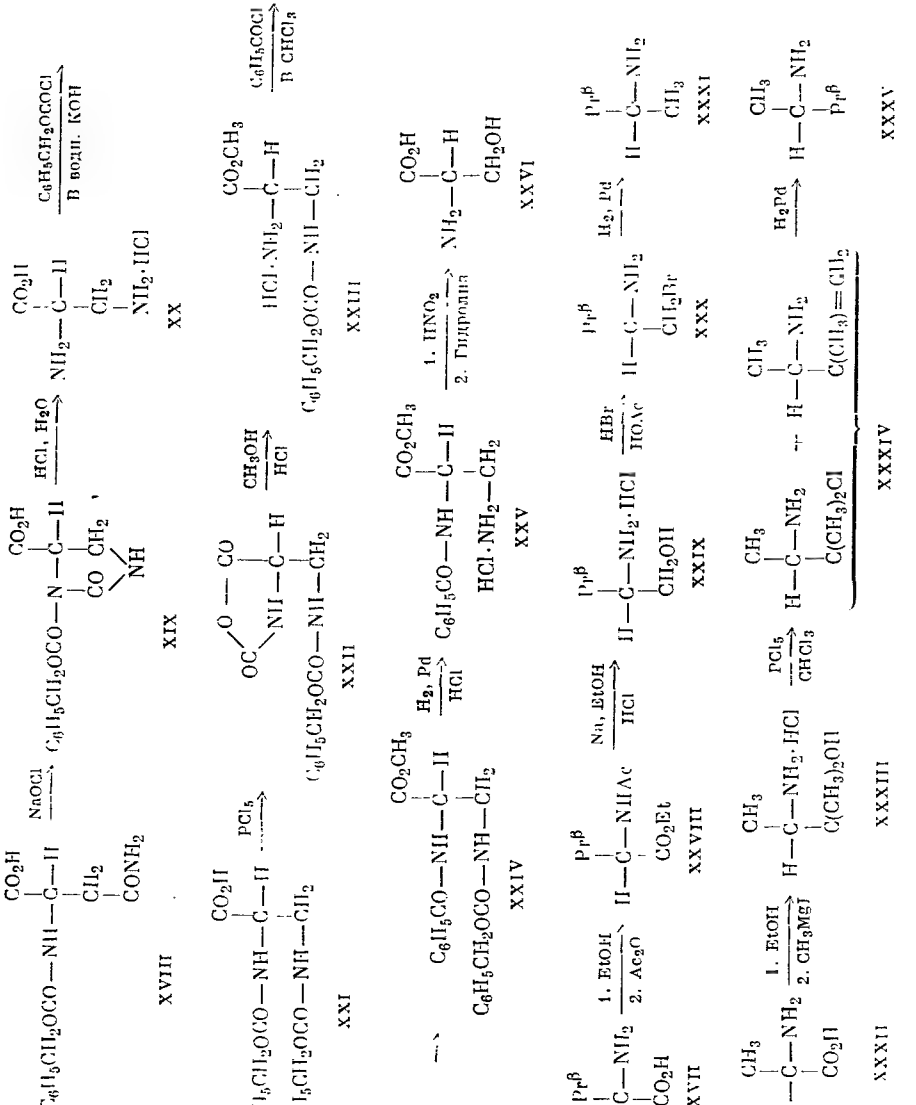
ство (XVII; $[\alpha]_D$ + 25,0°, в 1 н. HCl) было получено несколько ранее Каррером и Шлоссером [26] из (—)-аспарагина (XIV; $[\alpha]_D$ —5,4°, в воде) гофмановским расщеплением ацетилпроизводного последнего (XV; $[\alpha]_D$ 0°, в воде) и последующим кислотным гидролизом полученной при этом (—)-глиоксалидонкарбоновой кислоты (XVI; $[\alpha]_D$ —16,5°, в воде), то тем самым была доказана конфигурационная эквивалентность (—)-аспарагина и (+)-аспарагиновой кислоты Пастера с (—)-серином, (+)-аланином и (—)-цистином Фишера и Раске. Поскольку (—)-серину как стандарту отнесений в ряду аминокислот была приписана L-конфигурация, (—)-аспарагину, (+)-аспарагиновой кислоте, (+)-аланину и (—)-цистину должна быть приписана та же самая конфигурация.

Полная обоснованность выводов о стереохимической эквивалентности (—)-аспарагина и (—)-серина следует также из данных Шнейдера [27], который в 1937 г. серией удачно подобранных реакций превратил карбобензокси-(—)-аспарагин (XVIII) в (—)-серин (XXVI). То, что конечный продукт XXVI имел $[\alpha]_D^{20}$ —7,2° (в воде), свидетельствует о незначительной рацемизации в процессе этих превращений. Все изложенные здесь превращения представлены на схемах, приведенных на стр. 114 и 115.



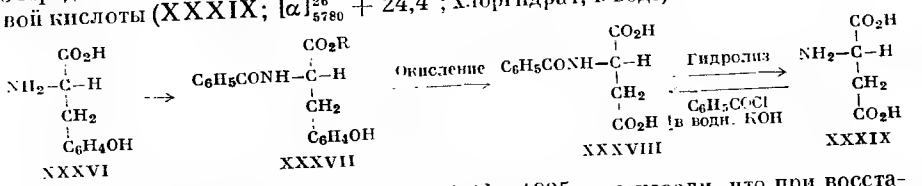
Валин. Интересный способ определения стереохимических отношений аминокислот использовали Барроу и Фергюсон [20] в 1935 г. Эти исследователи превращали L-(+)-аланин (XXXII) белкового происхождения и (+)-валин (XXVII) соответственно в право- и левовращающие изомеры α-метилизобутиламина (XXXI и XXXV). Карбоксильная группа L-(+)-аланина превращалась в изопропильную группу, а карбоксил (—)-валина — в метильную группу. В том случае, если исходные аминокислоты принадлежат к одному конфигурационному ряду, оба образующихся α-метилизобутиламина должны обладать антиподными конфигурациями, так как карбоксильная группа каждой из аминокислот в результате трансформируется в боковую цепь другой аминокислоты. Реакции, с помощью которых были осуществлены эти превращения, изображены на стр. 115.

Следует отметить, что при восстановлении натрием в спирте соединения XXVIII в соединение XXIX наблюдается значительная рацемизация. Веще-

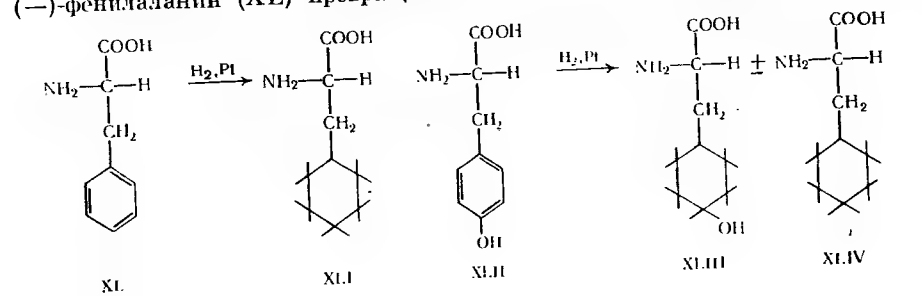


ство XXIX обладает малым положительным значением удельного вращения ($[\alpha]^{18}_{5461}$ + 1,2°, в воде) в отличие от оптически чистого образца хлоргидрата валинола (XXIX), полученного химическим расщеплением рацемата и имеющего в тех же условиях удельное вращение + 16,4°. Поэтому для дальнейших превращений был использован оптически более однородный продукт, полученный разделением антиподов. В некоторой степени рацемизация наблюдается также при превращении соединения XXXIII в XXXIV. Однако противоположные знаки вращения конечных соединений практически не оставляют сомнений в том, что (+)-аланин и (+)-валин стереохимически идентичны. Независимое доказательство правильности этого вывода было позднее дано Каррером и Динкелем [28], которые использовали методы, не сопровождающиеся заметной рацемизацией.

Тирозин. В 1933 г. Гольдшмидт и Фрейс [29] осуществили химическое превращение (—)-тирозина в L-аспарагиновую кислоту и тем самым указали путь, с помощью которого алифатические аминокислоты могут быть стереохимически сопоставлены с фенилпроизводными аминокислот классическими методами органической химии. Этот путь заключается в превращении (—)-тирозина (XXXVI; $[\alpha]_D$ —8,8°, в 21%-ной HCl) в N-бензоилтирозин (XXXVII, R = H) обычным методом Шоттена — Баумана и последующем окислении N-бензоилпроизводного до бензоиласпарагиновой кислоты (XXXVIII; $[\alpha]_D$ + 38,5°; K-соль, в воде). Завершающей стадией явилось превращение L-аспарагиновой кислоты (XXXIX) в соответствующее N-бензоильное производное (XXXVIII; $[\alpha]_D$ + 38,8°; K-соль, в воде). Интересно отметить, что Левен и Мардашев [30], которые, по-видимому, не были знакомы с этой работой, сообщили об аналогичном методе корреляции примерно четыре года спустя. В этом случае этиловый эфир бензоилтирозина (XXXVII, R = C_2H_5; $[\alpha]^{20}_D$ —23,2°, в спирте), полученный из (—)-тирозина (XXXVI; $[\alpha]^{26}_D$ — 7,8°, в 20%-ной HCl), окисляли окисью хрома в ледяной уксусной кислоте до N-бензоиласпарагиновой кислоты (XXXVIII), которая в свою очередь без выделения подвергалась кислотному гидролизу до L-аспарагиновой кислоты (XXXIX; $[\alpha]^{26}_{5780}$ + 24,4°; хлоргидрат, в воде).



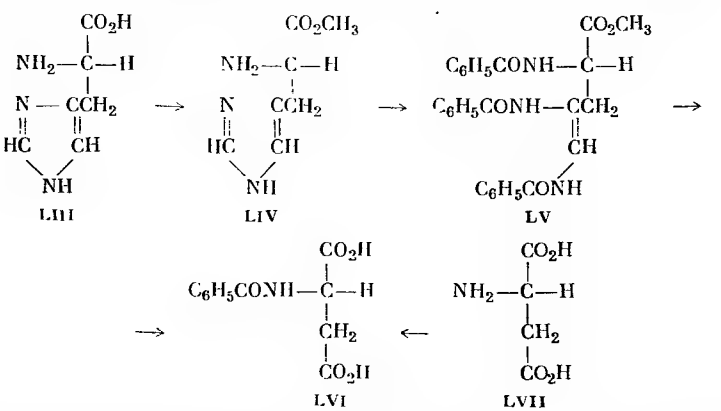
Фенилаланин. Вазер и Браухли [31] в 1925 г. показали, что при восстановлении над платиновой чернью в нейтральном или кислом водном растворе (—)-фенилаланин (XL) превращается в (+)-гексагидрофенилаланин (XLI;



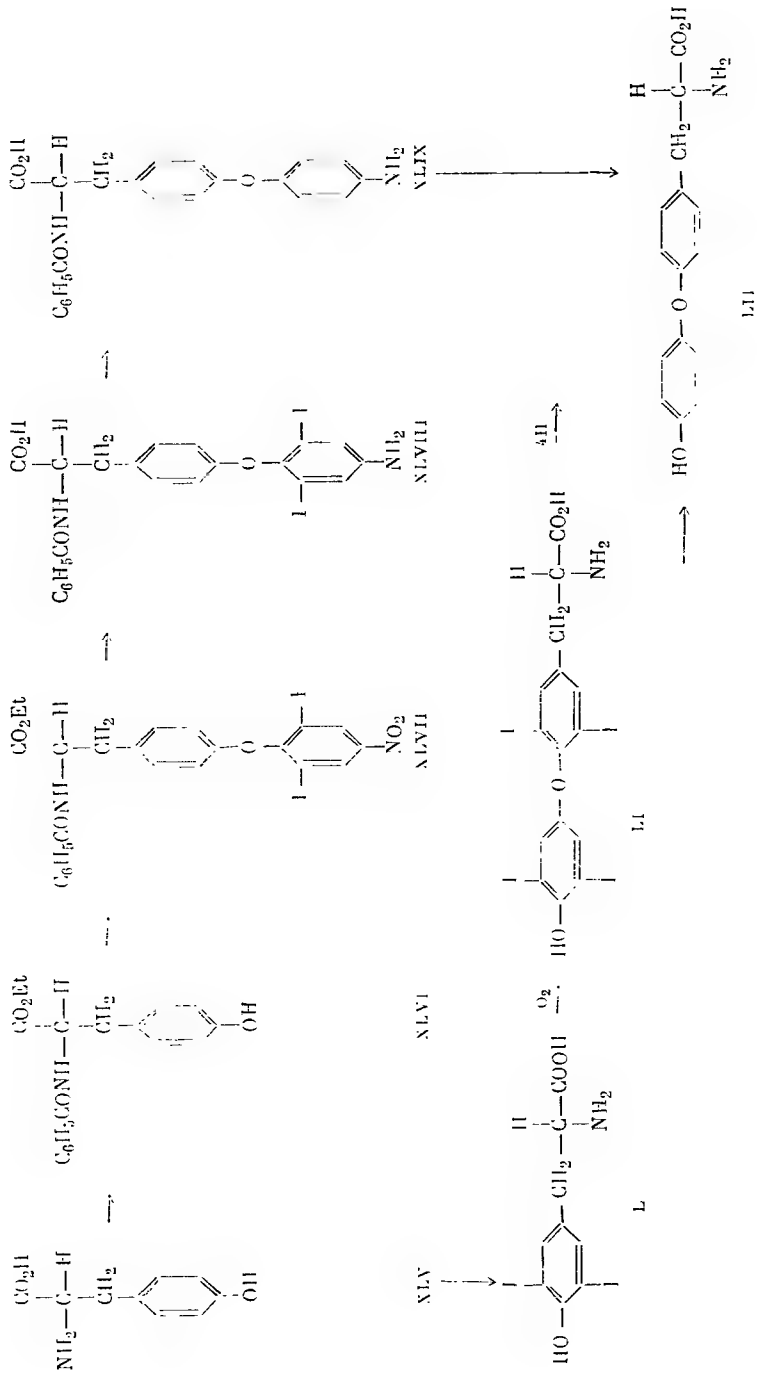
$[\alpha]^{20}_D$ + 13,3°, в 4%-ной HCl). Сходное каталитическое восстановление L-тирозина (XLII) приводит к смеси аминокислот, из которой фракционированием из водного раствора или в виде эфиров из органического растворителя удается выделить (+)-гексагидротирозин (XLIII; $[\alpha]^{20}_D$ + 14,7°, в 4%-ной HCl) и (+)-гексагидрофенилаланин (XLIV). Поскольку соединение XLIV имеет тот же знак вращения, что и соединение XLI, образующееся при гидрировании (—)-фенилаланина, этому последнему соединению следует приписать L-конфигурацию.

Тироксин и 3,5-дииодтирозин. Конфигурационная эквивалентность (—)-тироксина и (+)-3,5-дииодтирозина L-тирозину установлена блестящими исследованиями Харингтона совместно с Канцанелли Рендаллом [32] и с Питт-Риверсом [33]. L-Тирозин (XLV) превращали в этиловый эфир N-бензоилтирозина (XLVI) и последний конденсировали с 3,4,5-триодинитробензолом нагреванием в растворе метилэтилкетона в присутствии карбоната калия. При этом было получено соединение XLVII ($[\alpha]_{5461}$ —1,8°, в уксусной кислоте), которое щелочным гидролизом и восстановлением нитрогруппы солью двухвалентного железа было превращено в XLVIII ($[\alpha]_{5461}$ —15,0°, в этаноле + 1 н. HCl (1 : 1)). Каталитическим восстановительным дегалогенированием XLVIII и затем последовательным диазотированием и гидролизом продукта восстановления (XLIX; $[\alpha]_{5461}$ —40,0°, в этаноле + 1 н. HCl (1 : 1)) был получен (+)-тиронин (LII; $[\alpha]_{5461}$ +13,3°, в этаноле + 1 н. HCl (1 : 1)). С другой стороны, каталитическое дегалогенирование природного (—)-тироксина (LI) привело к (+)-тиронину (LII), что позволило провести корреляцию этих соединений между собой и с L-тирозином [32]. Дальнейшим подтверждением этих зависимостей [33, 34] явилось то, что (+)-3,5-дииодтирозин (L; $[\alpha]^{22}_D$ + 1,5°, в 1 н. HCl), полученный подированием L-тирозина (XLV; $[\alpha]^{22}_D$ —12,4°, в 1 н. HCl), частично превращается в (—)-тироксин (LI; $[\alpha]^{22}_D$ —5,0°, этанол + 1 н. NaOH (2 : 1)) выдерживанием в течение 14 суток при pH 8,7 и температуре 38° (см. схему на стр. 118).

Гистидин. В 1925 г. Лангенбек [35] установил, что конфигурация природного гистидина идентична конфигурации L-аспарагиновой кислоты. Это было осуществлено рядом превращений, приведенных на схеме:



Лангенбек использовал наблюдение, сделанное Косселем и Эдльбахером [36], показавших, что обработка метилового эфира гистидина (LIV) хлорис-



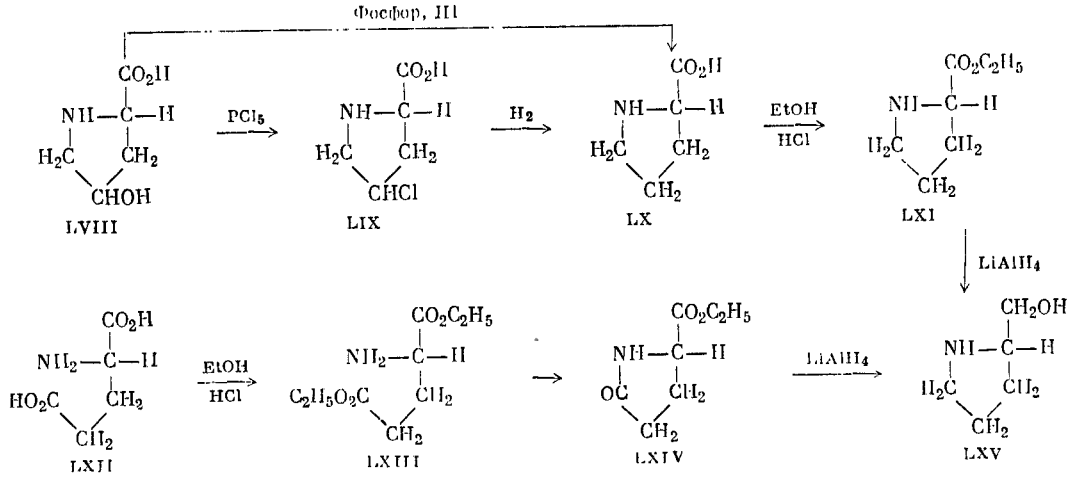
тым бензоилом в присутствии карбоната натрия приводит к расщеплению имидазольного цикла и образованию метилового эфира 2,4,5-трибензамидо-4-пентеновой кислоты (LV; $[\alpha]^{18}_{633}$ —52,4°, в пиридине). Реакции этого типа, когда бензоилирование имидазолов по Шоттену — Бауману приводит к расщеплению имидазольного кольца, впервые описаны Бамбергером [37] в 1893 г. и обычно называются бамбергеровским расщеплением. Озонолиз трибензоилпроизводного (LV) и последующий частичный гидролиз раствором HCl в метаноле приводит к бензоилпроизводному аспарагиновой кислоты (LVI; $[\alpha]^{18}_{633}$ + 38,4° в 2 н. растворе Na_2CO_3), природная L-конфигурация которого была установлена сравнением с образцом (LVI; $[\alpha]^{18}_{633}$ + 37,7°, в 2 н. растворе Na_2CO_3), полученным бензоилированием L-аспарагиновой кислоты (LVII).

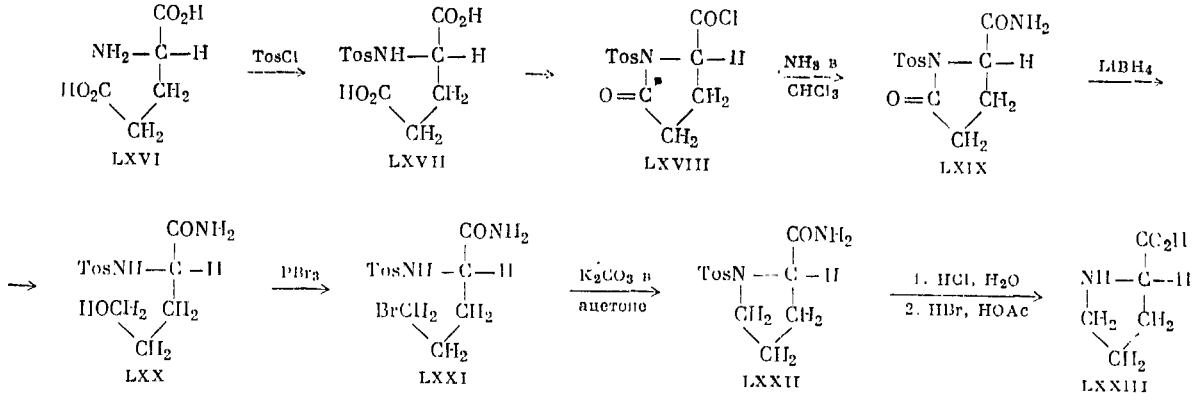
Пролин, оксипролин и глутаминовая кислота. Хотя тесная структурная зависимость между пролином (LX) и оксипролином (LVIII) была ранее выяснена Фишером [38] путем восстановления соединения LX в LVIII фосфором и иодистоводородной кислотой в запаянной трубке, значительная рацемизация, сопровождающая этот весьма жесткий процесс, не дала возможности сделать какие-либо выводы относительно конфигурационных отношений между встречающимися в природе формами этих двух аминокислот. α-Асимметрические центры (—)-пролина и (—)-оксипролина конфигурационно сходны, что было установлено Канэко [39] превращением левовращающей формы LVIII в 4-хлорпролин (LIX) реакцией с PCl_5 и последующим восстановлением LIX до левовращающего энантиомера LX. Поскольку N-ацетил-производное (—)-оксипролина может быть окислено перманганатом калия в L-аспарагиновую кислоту, левовращающие антиподы как пролина, так и оксипролина следует отнести к L-ряду [39]. Однако этот последний довод нуждается в дальнейшем подтверждении [40].

Следует отметить, что из-за включения атома азота природных пролина и оксипролина в пирролидиновый цикл ранние работы по доказательству конфигурации при α-атоме углерода этих аминокислот корреляцией с L-серином были недостаточно убедительными. Однако эти затруднения были устранены в последних работах Каррера и Портмана [41], которые свели химически (—)-пролин к (+)-глутаминовой кислоте (LXII), не содержащей циклической группировки. (+)-Глутаминовую кислоту (LXII) превращали в этиловый эфир 2-пирролидонкарбоновой кислоты (LXIV), который восстанавливали $LiAlH_4$ в 2-оксиметилпирролидин (LXV; $[\alpha]^{18}_{D}$ + 22°, в виде оксалата в воде). Поскольку соединение LXV с тем же знаком вращения было ранее получено Каррером, Портманом и Сьютером [42] последовательной этерификацией и восстановлением $LiAlH_4$ (—)-пролина (LX), эта последняя иминокислота должна быть стереохимически идентична (+)-глутаминовой кислоте белкового происхождения.

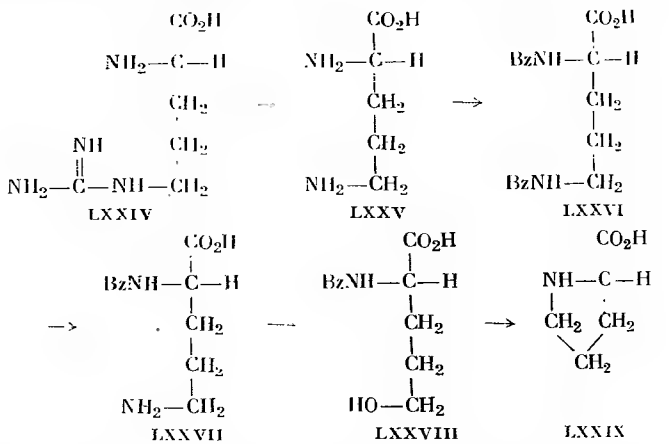
Недавно эти корреляции были подтверждены прямым превращением (+)-глутаминовой кислоты в (—)-пролин, осуществленным Правдой и Рудингером [43]. Этот путь (LXVI — LXXIII) показан на схеме (см. стр. 121), где Tos означает *п*-толуолсульфонильную группу. Полученный этим способом пролин имеет $[\alpha]^{21}_{D}$ — 84° в воде.

Аргинин. В 1926 г. Каррер и Эренштейн [44] описали превращение природного (+)-аргинина в (—)-пролин; (+)-аргинин (LXXIV) вначале расщепляли до (+)-орнитина (LXXV) горячим раствором гидроокиси бария по методу Шульце и Винтерштейна [45], а затем полученный продукт последовательно ацилировали по Шоттену — Бауману до α,δ-дибензоилпроизвод-

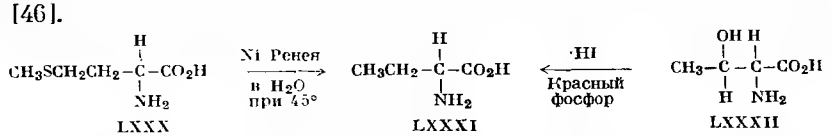

Фосфор, III
PCl5
H2
EtOH
HCl
LiAlH4
LVIII
LIX
LX
LXI
LXII
LXIII
LXIV
LXV


TosCl
NH3 в CHCl3
LiBH4
PBr3
K2CO3 в ацетоне
1. HCl, H2O
2. HBr, HOAc
LXVI
LXVII
LXVIII
LXIX
LXX
LXXI
LXXII
LXXIII

ного (LXXVI; $[\alpha]_D^{15}$ — 1,6°, в метаноле). Селективный гидролиз δ-бензоильной группы в LXXVI приводил к α-бензоилорнитину (LXXVII; $[\alpha]_D^{20}$ + 8,0°, в воде). Обработка этого соединения азотистой кислотой дала α-бензоил-δ-окси-*н*-валериановую кислоту (LXXVIII), которую нагревали *in situ* с HI при 120—140° в запаянном сосуде. Хотя реакционная смесь после нейтрализации обладала левым вращением, выделенный из нее пролин (LXXIX) оказался частично рацемизованным и загрязненным. Все же знак оптического вращения, несомненно, указывает на идентичность конфигураций (—)-пролина и (+)-аргинина.



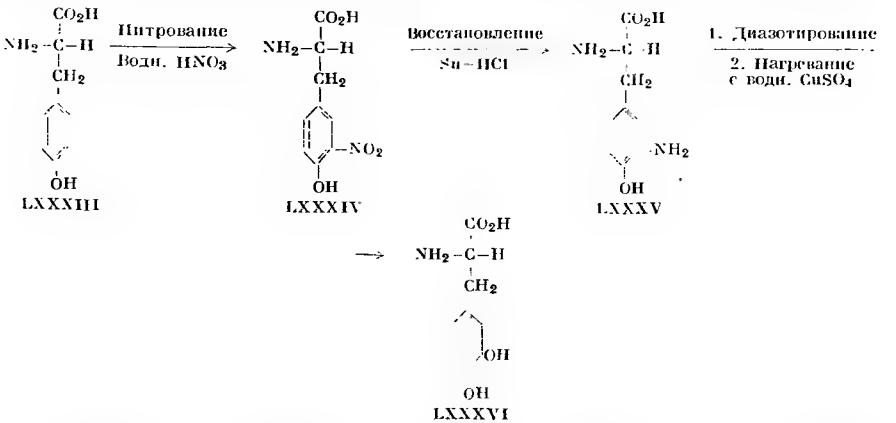
Другие аминокислоты белкового происхождения. Описанные выше оптически активные аминокислоты представляют собой те антиподы белкового происхождения, стереохимическая идентичность которых L-серину может быть доказана применением классических методов органической химии. Заметно отличаются от этой группы аминокислот (—)-лейцин, (+)-изолейцин, (+)-лизин, (—)-триптофан, (—)-метионин и (—)-треонин, к которым химические методы до сих пор не применялись. Однако данные, полученные физическими, биохимическими и физиологическими методами, не оставляют сомнений в том, что эти и другие аминокислоты белкового происхождения обладают L-конфигурацией. В согласии с этим выводом находится, например, тот факт, что (—)-метионин (LXXX) и (—)-треонин (LXXXII) обладают эквивалентной конфигурацией, так как они могут быть превращены в один и тот же (+)-бутирин (LXXXI). Это превращение в случае метионина достигается десульфированием с помощью никеля Ренея [23], а в случае треонина — восстановлением смесью иодистоводородной кислоты и красного фосфора [46].



8. Корреляции конфигураций некоторых аминокислот небелкового происхождения. Конфигурации большого числа оптически активных аминокислот небелкового происхождения (как природных, так и синтетических) были определены корреляцией с L-серином. Поскольку число таких аминокислот очень велико, обсудить с достаточной полнотой методы корреляции

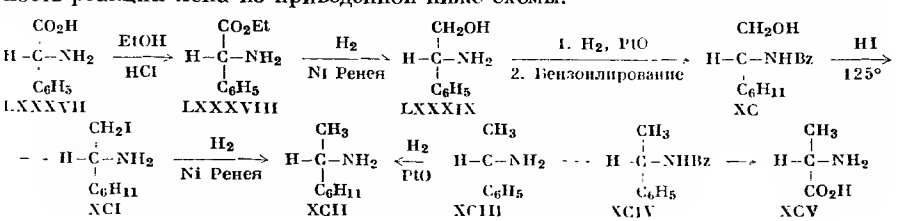
конфигураций всех их не представляется возможным. Все же здесь будут обсуждены данные, касающиеся некоторых из этих аминокислот, с целью дать представление о разнообразии структурных типов и о химических методах, применяемых для выяснения их конфигураций.

3,4-Диоксифенилаланин. Эта аминокислота была первоначально выделена Торквати [47] в 1913 г. из водных экстрактов стручков и побегов *Vicia faba*. Однако в том же году Гуггенхейм [48], установивший ее состав и структуру, показал, что она идентична аминокислоте, синтезированной Функом [49] двумя годами раньше. Присутствие ее в экстрактах бархатных бобов было установлено Миллером [50] в 1920 г. В 1921 г. Вазер и Левандский [51] превратили L-тирозин (LXXXIII; $[\alpha]_D^{15}$ —12,6°, в 4%-ной HCl) в (—)-3,4-диоксифенилаланин (LXXXVI; $[\alpha]_D^{15}$ —39,5°, в воде) следующим рядом реакций:



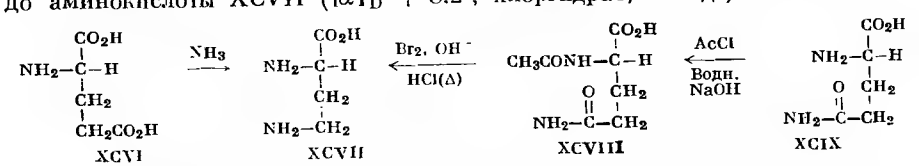
Промежуточно образующиеся 3-нитро- (LXXXIV) и 3-аминотирозин (LXXXV) обладают значением $[\alpha]_D^{15}$ соответственно +3,2 и —3,6° (в 4%-ной HCl). Изучение синтетического продукта (LXXXVI) и природного 3,4-диоксифенилаланина, выделенного из *Vicia*, дало для обоих образцов одинаковые значения удельного вращения $[\alpha]_D^{15}$ — 12,7% (в 4%-ной HCl).

α-Фенилглицин (α-аминофенилуксусная кислота). Еще в 1908 г. Фишер и Вейхольд [52] расщепили синтетический DL-α-фенилглицин на оптические антиподы. Однако лишь спустя 32 года удалось химическими способами установить их конфигурацию. Хотя в результате была доказана стереохимическая эквивалентность D-(—)-аланина и (—)-фенилглицина, как это ни парадоксально, основанием для этого послужило превращение последней аминокислоты в L-(+)-аланин. При этом фенильная и карбоксильная группы (—)-фенилглицина (LXXXVII) были превращены соответственно в карбоксильную и метильную группы (+)-аланина (XCV). Последовательность реакций ясна из приведенной ниже схемы:



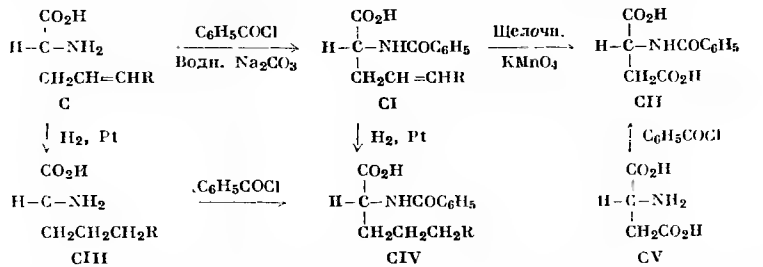
Левен [53, 54] в сотрудничестве с Овакимианом и Куна, исходя из (—)-α-фенилглицина (LXXXVII; $[\alpha]_D^{25}$ —125°, в 20%-ной HCl), через стадию этилового эфира (LXXXVIII; $[\alpha]_D^{25}$ —113°, без растворителя) получил сначала каталитическим восстановлением над никелем Ренея 1-амино-1-фенилэтанол (LXXXIX; $[\alpha]_D^{21}$ — 15°, в метаноле) и затем из него последовательным каталитическим восстановлением над окисью платины, обработкой HI и восстановительным дегалогенированием в присутствии катализатора Ренея — метилциклогексиламинометан (XCII; $[\alpha]_{546}^{25}$ —3,1°; хлоргидрат, в воде). Ранее это соединение XCII ($[\alpha]_D^{15}$ —5,0°; хлоргидрат, в воде) было получено Лейте [55] восстановлением (—)-α-фенилэтиламина (XCIII; $[\alpha]_D^{15}$ —40,3°, без растворителя) над окисью платины. Поскольку Лейте [56] было показано, что XCIII можно превратить в L-аланин (XCV) нитрованием бензоилпроизводного соединения XCIII (XCIV; $[\alpha]_D^{20}$ — 44,7°, в бензоле) и последующим восстановлением, диазотированием и окислением, весь путь от α-фенилглицина к аланину оказался замкнутым. Отсюда следовало, что (+)- и (—)-антиподам α-фенилглицина можно приписать соответственно L- и D-конфигурации [54].

γ-Аминобутирин (α,γ-диаминомасляная кислота). В 1948 г. Катч и Джонс [57] выделили из кислотных гидролизатов антибиотика полимиксина γ-аминобутирин (XCVII) в виде его хлоргидрата и пикрата. Почти в то же время эта кислота была выделена Петерсоном и Рейнеке [58] из кислотных гидролизатов циркулина. Структура и конфигурация этой аминокислоты были выяснены путем ее синтеза из L-глутаминовой кислоты (XCVI) по реакции Адамсона. Полученный этим способом образец γ-аминобутирина обладал удельным вращением +8,5° (хлоргидрат, в воде), в то время как природная аминокислота имела значение $[\alpha]_D$ + 8°. Интересно отметить в этой связи, что стереохимическая эквивалентность L-(+)глутаминовой кислоты и L-(+)-γ-аминобутирина была выяснена еще в 1926 г. Каррером, Эшером и Видмером [59]. Вкратце последовательность использованных при этом реакций заключается в ацетилировании L-глутамина (XCIX) и гофмановском расщеплении ацетилпроизводного (XCVIII; $[\alpha]_D^{21}$ — 12,5°, в воде) до аминокислоты XCVII ($[\alpha]_D$ + 8.2°; хлоргидрат, в воде).

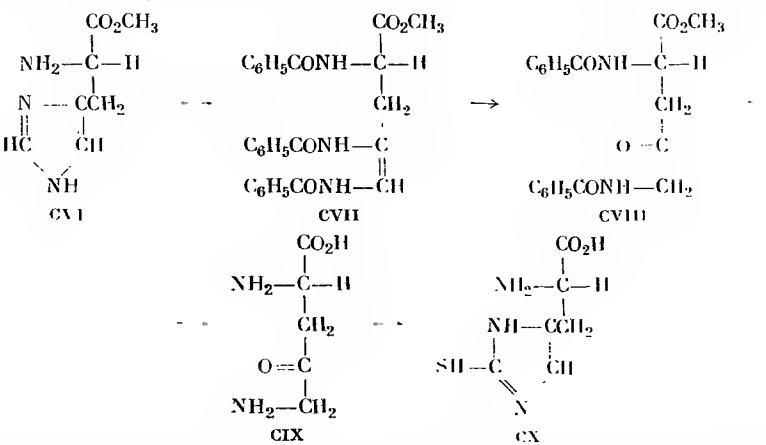


Норвалин и норлейцин. Хотя ни одна из этих аминокислот до сих пор не найдена в природе, антиподы обеих известны. Стереохимическая идентичность левовращающих форм каждой из них и D-(—)-аспарагиновой кислоты была доказана Каррером в сотрудничестве с Ичнером [60] и Шнейдером [61]. Так, окисление щелочным перманганатом бензоилпроизводного (—)-аллилгиппуровой кислоты (CI, R = H; $[\alpha]_D^{20}$ —32.1°, K-соль, в воде) и (+)-кротонилгиппуровой кислоты (CI, R = CH_3; $[\alpha]_D^{18}$ —66,0°, в бензоле) приводит в обоих случаях к бензоил-D-(—)-аспарагиновой кислоте (CII; $[\alpha]_D^{18}$ —22,4° и —37,4°, ди-K-соль, в воде). С другой стороны, каталитическое восстановление первого из этих соединений приводит к образованию (—)-бензоилнорвалина (CIV, R = H; $[\alpha]_D^{19}$ — 13,1°, K-соль, в воде), тогда как аналогичное восстановление (+)-кротонилглицина (C, R = CH_3; $[\alpha]_D^{18}$ + 20,0°, в воде) дает (—)-норлейцин (CIII, R = CH_3; $[\alpha]_D^{18}$ — 8,7°, в 20%-ной HCl). Низкое значение удельного вращения, полученное для

(—)-норлейцина, объясняется авторами тем, что был использован частично рацемизованный препарат (+)-кротонилглицина; наиболее чистые образцы этого соединения имеют $[\alpha]_D^{18}$ + 52,5° (в воде). Поскольку бензоилирование (—)-норвалина (CIII, R = H; $[\alpha]_D^{19}$ —21,8°, в 20%-ной HCl) приводит к (—)-бензоилнорвалину (CIV, R = H; $[\alpha]_D^{19}$ —15°, K-соль, в воде), конфигурационные зависимости между D-аспарагиновой кислотой, (—)-норвалином и (—)-норлейцином оказываются полностью установленными.

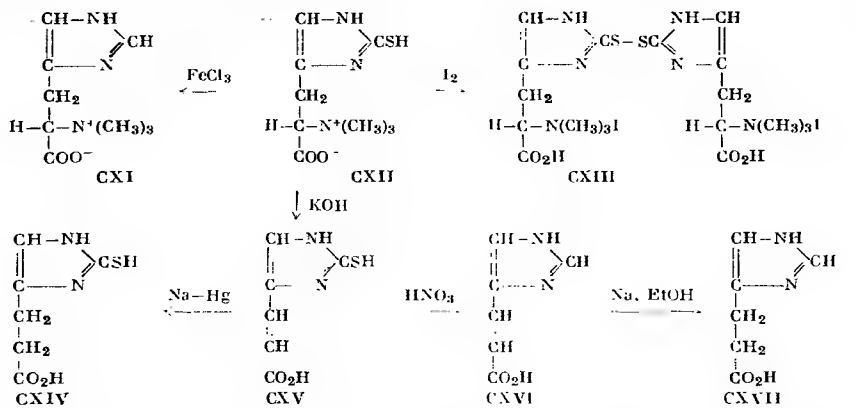


Тиолгистидин. Это соединение также не выделено из природных источников, однако интерес к нему был вызван тем, что некоторые белки дают положительную тиолимидазольную цветную реакцию [62]. Синтез тиолгистидина был впервые осуществлен Ашли и Харингтоном [63] и затем был усовершенствован Тесаром и Риттенбергом [64]. Эти синтезы заключаются в исчерпывающем бензоилировании метилового эфира L-гистидина (CVI) до метилового эфира 2,4,5-трибензамидо-4-пентеновой кислоты (CVII). Частичный гидролиз этого соединения метанольным HCl дает метиловый эфир L-2,5-дибензамидо-4-кетопентановой кислоты (CVIII), который последующим гидролизом 20%-ной HCl превращается в L-2,5-диамино-4-кетопентановую кислоту (CIX). Действие одного эквивалента NaSCN на соединение CIX в водном растворе приводит к замыканию цикла и образованию L-2-тиолгистидина (CX; $[\alpha]_D$ —10°, в 1 н. HCl).



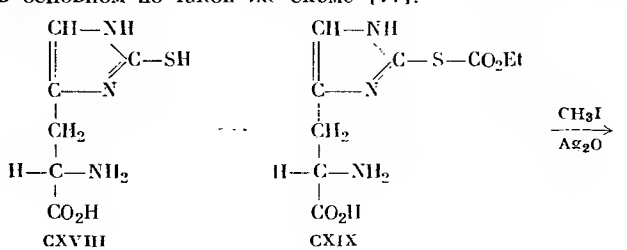
Эрготионин. Это соединение (CXII), имеющее значение $[\alpha]_D$ + 110° (в воде), было выделено Танретом [65, 66] в 1909 г. из спорыньи. Впоследствии его присутствие (с $[\alpha]_D$ + 115°, в воде) было обнаружено в крови [67—71]. Барджер и Эвинс [72] и затем Акабори [73] установили строение

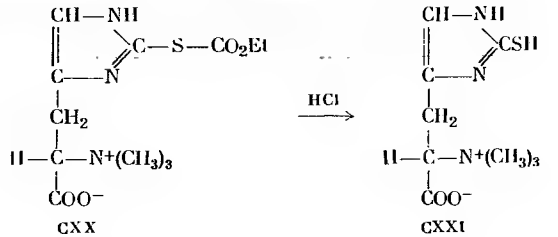
эрготионина методом, показанным на схеме.



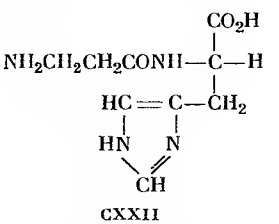
Обработка соединения CXII 50%-ным раствором KOH приводит к количественному расщеплению до триметиламина и соединения CXV. Окисление этого последнего разбавленной азотной кислотой и последующее восстановление образующейся 2-имидазол-4-акриловой кислоты (CXVI) натрием и спиртом дает насыщенную кислоту (CXVII). Окисление эрготионина $FeCl_3$ или иодом приводит к получению соответственно бетаина гистидина (CXI) и соединения CXIII. Положение меркаптогруппы в имидазольном кольце установлено Акабори [73] путем восстановления CXV до CXIV действием амальгамы натрия, чем сохраняется целостность меркаптогруппировки в образующемся производном пропионовой кислоты. Интересно отметить здесь, что Барджер и Эвинс [72] предсказали наличие в природе соединения CXI, обычно известного под названием герцинин. Это предположение было позднее подтверждено идентификацией герцинина в различных видах грибов [74, 75].

Синтез эрготионина из L-гистидина осуществлен Хитом, Лоусоном и Римингтоном [76]. 2-Тиолгистидин (CXVIII), полученный модификацией существующих методов [63, 64], превращался в S-карбэтоксипроизводное (CXIX) действием хлоругольного эфира. Метилирование α-аминогруппы было осуществлено в нейтральных условиях иодистым метилом и окисью серебра. Гидролиз полученного при этом соединения CXX соляной кислотой привел к ожидаемому соединению CXXI. В ходе этого синтеза наблюдалась значительная рацемизация, вследствие чего конечный продукт имел удельное вращение + 47° (в воде), т. е. значение, сниженное более чем вдвое по отношению к природному соединению. Тем не менее конфигурационная зависимость между L-гистидином и природным эрготионином была, таким образом, установлена. Синтезы 2-тиол-4-метилгистидина и 4-метилэрготионина были осуществлены в основном по такой же схеме [77].

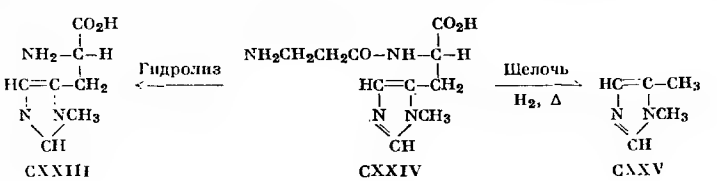




Карнозин. Это водорастворимое соединение, построенное из остатка β-аланина, связанного по С-концу амидной связью с остатком гистидина, содержится в мускульной ткани. Количество карнозина в этой ткани превышает количества любого другого экстрагируемого азотсодержащего вещества, за единственным исключением креатина. Выделение карнозина из экстрактов мышечной ткани впервые осуществлено Гулевичем и Амирадзиби [78] в 1900 г. Его строение установлено методами расщепления и синтеза. Так, щелочной гидролиз этого вещества приводит к L-гистидину [79], а синтез может быть осуществлен путем аминолиза β-иодпропионилгистидина [80] или восстановлением β-нитропропионилгистидина [81]. Природное соединение обладает удельным вращением +20,5° в водном растворе, что совпадает со значением, найденным для синтетического образца [82]. Следовательно, асимметрический центр природного карнозина (CXXII) должен обладать той же пространственной конфигурацией, что и асимметрический центр L-гистидина.

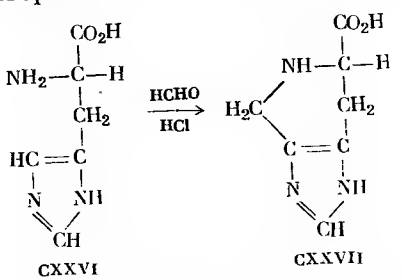


Ансерин. Это метилпроизводное карнозина ($[\alpha]_D^{16}$, + 11,26°, в воде), впервые выделенное из мышечной ткани Аккерманом, Тимпе и Поллером [83], обычно встречается в скелетных мышцах различных млекопитающих, птиц, рептилий и рыб [84]. Первоначальное предположение, что это соединение является монометилированным производным карнозина, было подтверждено Линневе, Кейлом и Хопне-Зейлером [85], которые выделили в результате гидролиза природного ансерина (CXXIV) баритовой водой метил-DL-гистидин (CXXIII) и β-аланин (в виде изоцианата). Щелочное расщепление ансерина в токе водорода приводит к образованию диметилимидазола (CXXV), который, как это было независимо установлено Пиманом [86] и Кейлом [87], идентичен ранее синтезированному [88] 1,5-диметилимидазолу.



Таким образом, было доказано, что метильная группа связана в положении 1 имидазольного ядра. Поскольку метилгистидин, выделенный из кислотных гидролизатов ансерина, обладает, как и L-гистидин, левым вращением, было высказано предположение, что он принадлежит к L-ряду [89]. Наконец, положение метилгистидинового остатка в качестве С-концевого остатка пептида было однозначно доказано расщеплением [87] и, кроме того, синтезом, осуществленным Беренсом и дю Виньо [90]. Удельное вращение синтетического продукта (+12,25°, в воде) совпадало с удельным вращением природного вещества. Подробный обзор работ по ансерину и карнозину дан в статье Беренса и дю Виньо [91].

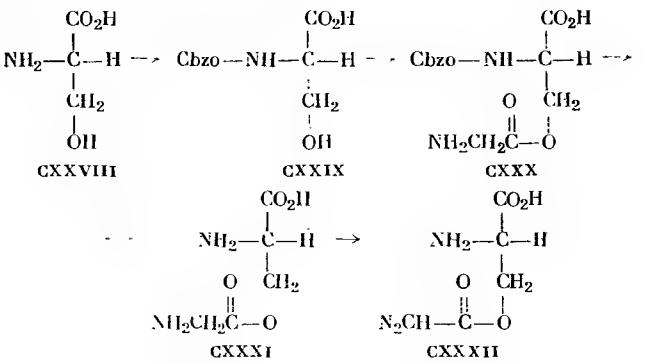
Спинацин. Аккерман и Скраун [92] описали выделение очень интересного бициклического соединения CXXVII из печени акулы *Ascanthias vulgaris*. Это соединение можно рассматривать как производное гистидина, у которого атом азота в α-положении связан с имидазольным кольцом посредством метиленового мостика. И действительно, оно может быть получено из стереохимически эквивалентного ему L-гистидина (CXXVI) действием формальдегида в растворе концентрированной соляной кислоты.



Азасерин. Выделение этого антибиотика из культуральной жидкости одного из актиномицетов описано в 1954 г. [93]. Исследования структуры азасерина показали наличие в его молекуле аминокислотного остатка, о чем свидетельствуют его гидрофильные свойства, положительные качественные реакции с нингидридом и β-нафтохинон-4-сульфонатом натрия, а также спектр в инфракрасной области [94]. В ИК-спектре этого соединения наблюдается также сильная полоса при 4,66 *мк*, характерная для диазогруппы, и полосы поглощения при 5,89, 5,96 и 8,42 *мк*, указывающие на наличие эфирной связи. Действие кислот на азасерин сопровождается выделением газообразного азота и исчезновением полосы при 4,66 *мк*. Кислотный гидролиз 2 *М* муравьиной кислотой приводит к образованию серина и гликолевой кислоты. Величина оптического вращения первого из этих соединений показывает, что оно относится к L-ряду. Все эти данные позволили приписать азасерину строение О-диазоацетил-L-серина.

Синтез азасерина из L-серина подтвердил данные о его строении [95]. Синтез заключается в превращении L-серина (CXXVIII) в N-карбобензоксипроизводное (CXXIX; $[\alpha]_D^{26}$ +5,8°, в уксусной кислоте) ацилированием по Шоттену — Бауману и дальнейшей реакцией этого последнего соединения с ангидридом N-карбоксиглицина в растворе сухого этилацетата, приводящей к образованию О-глицил-N-карбобензокси-L-серина (CXXX). Отщепление карбобензоксигруппы в соединении CXXX путем каталитического гидрогенолиза и затем диазотирование полученного О-глицил-L-серина (CXXXI; $[\alpha]_D^{28}$ +19,4°, в воде) дает О-диазоацетил-L-серин (CXXXII; $[\alpha]_D^{27}$ −0,6°, в воде). ИК-Спектры полученного соединения и природного

азасерина оказались идентичными.



Оптические методы

9. Общие соображения. Наиболее широко используемыми методами для установления стереохимических отношений между аминокислотами являются методы, опирающиеся главным образом на измерение оптического вращения. Основу этих методов составляют: а) корреляция между конфигурацией и знаком вращения, обнаруживаемая у ряда производных аминокислот, или б) характерная положительная или отрицательная разность в величине молекулярного вращения двух или более производных одной и той же аминокислоты, наблюдаемая при изменении pH растворов свободных кислот, или при изменении длины волны света, используемого для оптических изменений (дисперсия вращения). Поскольку установление относительных конфигураций этими методами обусловлено сходством оптического поведения ряда конфигурационно подобных веществ и поскольку величина оптического вращения этих веществ в свою очередь определяется различными факторами, ясно, что точный учет таких факторов совершенно необходим. Для обсуждения проблем, которым посвящен настоящий раздел, необходимо выяснить влияние условий эксперимента — длины волны света (λ), температуры (*t*), концентрации (*c*, в граммах вещества на 100 *мл* раствора) и растворителя. Все эти факторы являются переменными в классическом уравнении Био [96] для удельного вращения ($[\alpha]$):

$$[\alpha]_\lambda^t = \frac{100\alpha}{lc},$$

где α — наблюдаемая величина вращения, *l* — длина (в дециметрах) поляриметрической трубки. Молекулярное вращение ([M]) получается при умножении удельного вращения на молекулярный вес оптически активного вещества и делении на 100:

$$[M] = \frac{[\alpha]\cdot \text{Мол. вес}}{100}.$$

Для корреляций чаще используют величины молекулярного, а не удельного вращения.

Длина волны. Сравнение аминокислот или их производных при постоянной длине волны света обычно лучше всего осуществлять, используя в качестве источника монохроматического излучения D-линию натрия. Как показано Био [96] в 1853 г., величина вращения плоскополяризованного света сильно зависит от длины волны. Поэтому безуспешно пытаться делать какие-

либо выводы, измеряя вращение двух оптически активных веществ при разных значениях длины волны. Этот параметр должен быть совершенно однозначно определен. Его важность при изучении конфигурационных зависимостей неоднократно обсуждалась рядом исследователей [97—99] и может быть проиллюстрирована некоторыми данными, полученными в лаборатории авторов. Как видно из табл. 12, молекулярное вращение L-пролина и L-трипто-

Таблица 12

Молекулярное вращение L-пролина и L-триптофана при различных длинах волн

Длина волны, ммк	[M] L-пролина, градусы [a]		[M] L-триптофана, градусы [a]	
	в воде	в 5 н. HCl	в воде	в 1 н. HCl
365	−305,0	−180,7	−140,0	+152,3
405	−236,0	−143,9	—	+82,1
435	−196,8	−120,9	−118,6	+55,1
546	−116,3	−73,1	−78,2	+19,7
578	−102,1	−64,5	—	+13,7
589	−98,0	−62,3	−68,0	+13,0

[a] Оптическое вращение измерено с помощью фотоэлектрического поляриметра при температуре 24 — 28° и концентрации 0,9 — 2% (см. работу [198] и ее обсуждение).

фана в воде и в соляной кислоте сильно варьирует в зависимости от длины световой волны. Это особенно ясно видно на примере L-триптофана, когда наблюдается примерно двенадцатикратное увеличение значения молекулярного вращения при изменении длины волны от 589 до 365 *ммк*. Действительно, абсолютное значение молекулярного вращения всех аминокислот, измененное в области 365—589 *ммк* как в воде, так и в растворе соляной кислоты, становится выше с уменьшением длины волны.

Температура. Измерения вращения оптически активных аминокислот или их производных обычно проводятся при температуре 20—30°. К счастью, лишь ограниченное число веществ заметно отличается по величине вращения при различных температурах, так что при сравнениях с целью установления конфигурации различие в температуре измерения менее чем в 10° не существенно. Все же при бо́льших температурных различиях о таких зависимостях оптического вращения следует помнить. В 1897 г. Кук [100] наблюдал уменьшение $[\alpha]_D$ L-аспарагиновой кислоты (0,5%-ный водный раствор) от +4,36 до 0° с повышением температуры от 20 до 75°; при дальнейшем нагревании до 90° $[\alpha]_D$ достигало значения −1,86°. Эти данные были подтверждены Клафом [101] в 1915 г., причем было показано, что аналогичное явление наблюдается и у L-аспарагина. Работы ряда исследователей показывают, что значения $[\alpha]_D$ растворов L-глутаминовой кислоты [102], L-лейцина [103], L-тирозина [104], L-гистидина [105] и других аминокислот также варьирует с температурой. В области температур 20—40° при повышении температуры на 1° изменение удельного вращения не превышает 0,3°. Следует указать на работу Тённиса и Лавина [106], которые нашли, что значения $[\alpha]_D$ L-цистина (1%-ный раствор в 1 н. HCl) составляют −222,4 и −202,0° при температурах соответственно 20,5 и 30,3°. Это показывает, что удельному вращению L-цистина присущ необычайно высокий температурный коэффициент в области нормальных температур — при увеличении температуры на 1° $[\alpha]_D$ снижается на 2°.

Концентрация. Обычно оптические измерения растворов аминокислот или их производных проводятся при концентрациях порядка 0,5—2%. Хотя удельное вращение растворов данной аминокислоты может изменяться с изменением концентрации за счет ионизации или же ассоциации молекул растворенного вещества и растворителя, опыт показывает, что в указанных пределах концентраций такие вариации заметно не влияют на корреляции. В табл. 13 приведены некоторые данные, полученные Луцем и Иргенсонсом

Таблица 13

Изменение удельного вращения некоторых L-аминокислот в зависимости от концентрации [107]

L-Аминокислота	Удельное вращение		
	$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель
Аргинин	+12,2	20	0,05 *M*, в воде
»	+12,5	20	0,20 *M*, в воде
»	+23,5	20	0,05 *M*, в воде+10 экв. HCl
»	+24,1	20	0,20 *M*, в воде+10 экв. HCl
Аспарагиновая кислота	+24,5	18	0,10 *M*, в воде+3 экв. HCl
То же	+26,5	18	0,30 *M*, в воде+3 экв. HCl
» »	−4,1	18	0,10 *M*, в воде+6 экв. NaOH
» »	−1,8	18	0,30 *M*, в воде+6 экв. NaOH
Цистин	−192,5	18,5	0,017 *M*, в воде+60 экв. HCl
»	−180,0	18,5	0,05 *M*, в воде+60 экв. HCl
3,4-Диоксифенилаланин	−22,2	20	0,025*M*. в воде+1 экв. HCl
То же	−19,1	20	0,05 *M*, в воде+1 экв. HCl
» »	−13,1	20	0,025 *M*, в воде+10 экв. HCl
» »	−12,6	20	0,05 *M*, в воде+10 экв. HCl
Оксипролин	−76,3	20	0,05 *M*. в воде
»	−75,9	20	0,10 *M*, в воде
»	−48,4	20	0,05 *M*, в воде+10 экв. HCl
»	−47,3	20	0,10 *M*. в воде+10 экв. HCl
»	−46,1	20	0,20 *M*, в воде+10 экв. HCl
Лизин·2HCl	+14,1	20	0,05 *M*, в воде
То же	+15,4	20	0,20 *M*, в воде
Орнитин·2HCl	+9,7	20	0,05 *M*, в воде
То же	+13,3	20	0,20 *M*, в воде

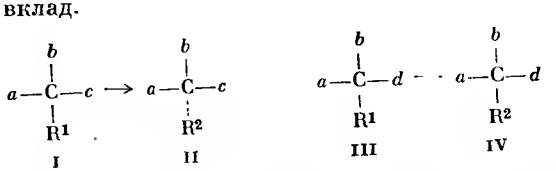
[107], относительно изменения удельного вращения в зависимости от концентрации. Эти данные свидетельствуют о том, что с увеличением концентрации аминокислоты, имеющие L-конфигурацию, проявляют тенденцию вращать сильнее вправо, хотя такое изменение вращения обычно мало́. Особенно примечательным является заметная разница в 12,5° между значениями удельного вращения L-цистина в 0,17 и 0,05 *M* растворах. Конечно, этих данных недостаточно, чтобы признать положительный сдвиг оптического вращения при увеличении концентрации общей характеристикой всех L-аминокислот.

Растворитель. Удельное вращение аминокислот и их производных, как и других классов соединений, может иметь разные значения и направления в различных системах растворителей. Это видно на примере, изученном

Абдергальденом и Вибертом [108], которые показали, что значение $[\alpha]_D$ дихлоргидрата диметилового эфира L-цистина в воде, метаноле и этаноле равно соответственно —48,5, —54,1 и +48,1°. Аналогичную ситуацию можно наблюдать и у свободных аминокислот. Так, значение $[M]_D$ L-метионина в воде равно —14,9°, а в ледяной уксусной кислоте +29,8° [109]. Из этих данных следует, что для каждого ряда соединений, являющихся объектами сравнения конфигураций с помощью оптических измерений, необходимо применять одинаковые растворители. Влияние pH на молекулярное вращение водных растворов аминокислот, имеющее в этой связи особо важное значение, будет детально рассмотрено ниже.

Кроме вышеуказанных причин, существенные отклонения от истинного значения вращения оптически активного вещества могут возникнуть за счет небольших количеств органических или неорганических примесей. Особенно важно отметить влияние примесей соответствующих стереоизомеров аминокислот. Так, например, 1% примеси *алло*-β-фенил-L-серина ($[M]_D$ + 108,7°, в CH_3COOH) к β-фенил-L-серину ($[M]_D$ — 92,6°, в CH_3COOH) приводит к сдвигу величины вращения последнего соединения на 2° вправо [109]. Во всяком случае, при изучении конфигурации особое внимание должно быть уделено чистоте используемых веществ, чтобы присутствие примесей не привело к сомнительным или неправильным интерпретациям.

10. Оптическая суперпозиция. Основой использования измерений оптического вращения для изучения структуры молекул является концепция Вант-Гоффа [110], согласно которой *оптическое вращение молекулы, содержащей два или более асимметрических атомов углерода, равно сумме удельных вращений, присущих каждому из составляющих ее асимметрических центров, причем направление вращения этих центров изменяется с левого на правое при замене данной конфигурации атомов их зеркальным отображением.* Эта концепция исходит из предположения, что каждый из четырех заместителей (*a*, *b*, *c* и R^1), окружающих асимметрический атом углерода данного соединения I, вносит в величину молекулярного вращения постоянный и аддитивный вклад.



Поэтому полная величина оптического вращения молекулы может быть выражена алгебраической суммой вкладов отдельных заместителей, т. е.

$$[M]_I = M_a + M_b + M_c + M_{R^1},$$

где [M] — молекулярное вращение соединения, а M — вклад данного заместителя. В отношении соединения III, где три заместителя (*a*, *b* и R^1) пространственно и конституционно идентичны соответствующим заместителям в соединении I, аналогичные рассуждения приводят к уравнению

$$[M]_{III} = M_a + M_b + M_d + M_{R^1}.$$

Теперь, если замещение R^1 на R^2 в каждом из этих соединений не изменяет пространственного расположения заместителей, связанных с асимметрическим атомом углерода, молекулярное вращение новых соединений

(II и IV) должно быть выражено следующими соотношениями:

$$[M]_{II} = M_a + M_b + M_c + M_{R^2},$$
$$[M]_{IV} = M_a + M_b + M_d + M_{R^2}.$$

Поскольку $[M]_I - [M]_{II}$ и $[M]_{III} - [M]_{IV}$ оба равны $M_{R^1} - M_{R^2}$, то, следовательно,

$$[M]_I - [M]_{II} = [M]_{III} - [M]_{IV}.$$

Из этих расчетов можно заключить, что соединения I и III стереохимически эквивалентны, если замещение данной группировки R^1 другой группировкой R^2 в каждом из них приводит к двум другим соединениям (соответственно II и IV), стереохимически идентичным первым, и если при этом знак и величина разностей $[M]_I - [M]_{II}$ и $[M]_{III} - [M]_{IV}$ одинаковы. Однако если соединения I и III имеют противоположную конфигурацию, указанные разности, хотя и близки по величине, но должны отличаться по знаку. Сходные вычисления могут, естественно, быть выполнены и для соединений, содержащих два или более центров асимметрии. В этих случаях, как уже упоминалось выше, полная величина оптического вращения молекулы складывается из индивидуальных и заранее известных составляющих, вносимых каждым из асимметрических центров. Концепция Вант-Гоффа [110] по существу и основана на предположении (названном Гюи и Готье [111] *принципом оптической суперпозиции*) о независимости вкладов каждого асимметрического центра в оптическую активность и вытекающих отсюда количественных зависимостях.

Точное выражение оптического вращения простым алгебраическим уравнением, предложенным Вант-Гоффом, выполнимо, если допустить, что замена какого-либо асимметрического атома его зеркальным изображением не сопровождается другими изменениями молекулы. Однако, как показали Лаури, Кун, Чугаев и др. (ср. с работой [112]), это допущение не согласуется с результатами позднейших исследований. Эти авторы доказали, что совершенно невозможно выделить оптический эффект данного заместителя из суммы взаимодействий и вторичных эффектов других атомов и групп той же асимметрической молекулы. Они также показали, что каждому асимметрическому атому углерода какого-либо оптически активного вещества может соответствовать одно или более значений парциального вращения, которые могут быть сопоставлены с характеристическими частотами тех или иных электронных переходов, происходящих в молекуле. Такие электронные переходы и в конечном счете обусловленные ими полосы поглощения могут, следовательно, существенно изменяться под влиянием соседних атомов или групп; удаленные от асимметрического атома углерода заместители заметного эффекта не проявляют. Поскольку инверсия конфигурации данного асимметрического центра в соединении, содержащем несколько таких центров, приводит к изменению пространственного распределения атомов, электронов и электромагнитных полей, то полосы поглощения в спектре этого нового диастереоизомера полностью не совпадают с полосами поглощения исходного соединения. Поскольку оптическое вращение в видимой области соответствует главным образом полосам поглощения при тех длинах волн, которые применяются для оптических измерений, разница во вращении двух диастереомеров частично зависит от длины волны света, используемого для сравнения. Отсюда видно, что условия, необходимые для правильного применения принципа *оптической суперпозиции*, не могут быть полностью воспроизведены.

Все это свидетельствует о том, что *принцип оптической суперпозиции* Вант-Гоффа редко можно использовать в его количественной форме. Тем не менее продуманное применение его к различным оптически активным веществам *сходной структуры и конфигурации* позволяет сформулировать ряд правил, которые являются чрезвычайно ценными при выяснении стереохимических зависимостей. Среди них можно упомянуть *о правилах изовращения* (the rules of isorotation) [113], *лактонном правиле* [114, 115], *амидном правиле* [116], *фенилгидразидном правиле* [116—118], *бензиминазольном правиле* (ср. с работой [119]), сыгравшим важную роль в развитии химии углеводов, и *о методе разностей молекулярных вращений* [120], который использовался для установления важнейших пространственных корреляций в области стероидов. Подобного типа правила широко использовались и для выяснения конфигураций аминокислот, о чем более подробно сказано ниже.

Прежде чем перейти к дальнейшему изложению, необходимо хорошо усвоить то обстоятельство, что корреляции, полученные единственно на основе оптических методов, не могут считаться столь же достоверными, как те, которые получены с помощью химических методов. Тем не менее измерение оптического вращения часто позволяет легко установить корреляцию там, где другие методы не приводят к успеху. Во всяком случае, ограниченное использование оптического метода с учетом сходства сравниваемых соединений, а также с учетом пределов его применимости может часто дать точные и важные результаты.

11. Изменения вращения, связанные с ионизацией. Наиболее удобным и надежным оптическим методом выяснения конфигурации α-асимметрического атома углерода является метод, основанный на положительном или отрицательном сдвиге молекулярного вращения, наблюдаемом при прибавлении кислоты к водному раствору оптически активной α-аминокислоты. Этот сдвиг связан главным образом с различием в относительных вкладах, вносимых карбоксилат-ионом и карбоксильной группой во вращательную способность молекулы. Метод в сущности является качественным применением правила оптической суперпозиции. Подкисление водного раствора L-аминокислоты приводит к *сдвигу молекулярного вращения в положительную сторону*, а аналогичная обработка D-аминокислоты приводит к *отрицательному сдвигу молекулярного вращения* [102, 107]. Эти явления могут быть изображены следующим образом:

$$\text{L-аминокислота: } [M]_{кисл} - [M]_{водн} = +\Delta[M];$$
$$\text{D-аминокислота: } [M]_{кисл} - [M]_{водн} = -\Delta[M].$$

Максимальные значения Δ [M] достигаются в большинстве случаев добавлением более 1, но менее 2 экв. кислоты; дальнейшее добавление кислоты не приводит к заметному изменению этого значения [121, 122]. Эти соотношения, известные под названием *правила Клафа — Луца — Иргенсонса*, являются справедливыми для всех изученных моноасимметрических α-аминокислот, имеющих структуру $RCH(NH_2)CO_2H$ [109, 123]. Они сохраняют свое значение и для антиподов таких иминокислот, как пролин и пипеколиновая кислота, но не применимы к α-аминокислотам, у которых α-атом замещен алкильной группой, например к изовалину [124].

Моноасимметрические α-аминокислоты. Влияние кислоты на вращательную способность α-аминокислот впервые отмечено в 1851 г. Пастером [21], который показал, что при добавлении азотной или соляной кислоты к водному раствору L-аспарагина прежде слабо левовращающий раствор приобретает правое вращение. Наоборот, добавление щелочи повышает

величину первоначального левого вращения. Сходные явления получены в случае L-аспарагиновой кислоты. Эти исследования Пастера были в дальнейшем повторены [100, 101, 121, 122, 125, 126] и распространены на другие аминокислоты [22, 122, 127—129]. Одной из наиболее примечательных работ раннего периода была работа Винкельблеха [121], который в 1901 г. определил константу диссоциации L-аспарагина, использовав сдвиг удельного вращения этой аминокислоты при переходе от растворов в воде к растворам, содержащим 1 экв. соляной кислоты или ее избыток.

Основываясь на данных оптического вращения, полученных рядом исследователей, Клаф [102] в 1918 г. пришел к выводу, что конфигурационно подобны те аминокислоты, у которых сдвиги удельного вращения водных растворов при прибавлении соляной кислоты имеют одинаковое направление. Применение этой концепции к (—)-аланину, (—)-серину, (—)-β-хлор-α-аланину, (+)-бутирину, (+)-валину, (+)-норлейцину, (—)-лейцину, (+)-изолейцину, (—)-аспарагину, (+)-аспарагиновой кислоте, (+)-глутаминовой кислоте, (—)-фенилаланину, (—)-тирозину и (+)-α-фенилглицину выявило сходство их оптического поведения, что позволило Клафу сделать вывод об их стереохимической эквивалентности. Эти выводы можно использовать для определения конфигурации лишь в том случае, если полученные с их помощью корреляции совпадают с корреляциями, установленными ранее с помощью химических, микробиологических или энзиматических методов:

Фишер и Раске [11] превратили *l*-серин в *l*-α-амино-β-хлорпропионовую кислоту и последнюю — в *d*-аланин, не затрагивая групп, непосредственно связанных с асимметрическим атомом углерода. Они показали, что хлоргидраты этих аминокислот обладают более сильным положительным вращением, чем конфигуративно сходные с ними свободные аминокислоты. Подобная закономерность величин оптического вращения наблюдается и у близких соединений — *l*-аспарагина и *d*-аспарагиновой кислоты. Это позволило автору (Клафу) сделать вывод о том, что величины вращения аминокислот (данные в работе) указывают на одинаковую конфигурацию всех этих соединений. Следует также отметить, что те аминокислоты, которые получаются из белков, отличаются по оптической активности... Более того, Эрлих [130] наблюдал, что, когда какие-либо неактивные аминокислоты подвергаются действию дрожжей в растворе сахара, формы, не поддающиеся их действию, являются энантиомерами природных форм. Конфигурация составляющих белки аминокислот также явствует из условий гидролиза полипептидов ферментами; так, только те соединения, которые содержат природные оптически активные формы аминокислот, подвергаются гидролизу трипсином [131]. Оптически активные аминокислоты, приведенные в настоящей работе, могут поэтому быть названы «*l*»-алифатическими α-аминокислотами [101, 102].

Правильность выводов Клафа подтверждена Луцем и Иргенсонсом [107], которые в ряде хорошо продуманных исследований показали, что появление более положительного значения оптического вращения в соляной кислоте по сравнению с водными растворами является общей характеристикой L-аминокислот. Сходное явление наблюдается и при использовании для создания кислой среды ледяной уксусной кислоты (вместо соляной) [123]. Однако при сравнении водных и щелочных растворов различных аминокислот подобного типа закономерностей не наблюдается [107, 122]. Таким образом, для решения вопросов конфигурации с достаточной степенью надежности могут быть использованы систематические и предсказываемые изменения направления оптического вращения, вызываемые добавлением кислот, т. е. изменения, зависящие в основном от относительного вклада карбоксилат-иона и карбоксильной группы в общую величину оптического вращения молекулы. Выводы, сделанные Клафом [102] и Луцем и Иргенсонсом [107], могут быть сформулированы следующим образом: *если молекулярное вращение оптически активной аминокислоты претерпевает сдвиг в направлении более положительных значений при добавлении кислоты к водному раствору*

Таблица 14

Влияние кислоты на сдвиг молекулярного вращения (в градусах) водных растворов L-α-аминокислот [109, 123]

L-Аминокислота	$[M]_D^{24-26}$ [а]				
	в воде	в 5 н. HCl	в ледяной AcOH	$[M]_{HCl}-[M]_{H_2O}$	$[M]_{AcOH}-[M]_{H_2O}$
Моноасимметрические α-аминокислоты					
Аланин	+1,6	+13,0	+29,4	+11,4	+27,8
Аллилглицин	−42,7	−6,6	—	+36,1	—
α-Аминоадипиновая кислота	+5,2	+40,3	—	+35,1	—
β-Аминоаланин [б]	0,0	+35,4	—	+35,4	—
γ-Аминобутирин [б]	+8,5	+37,4	—	+28,9	—
Аргинин [б]	+21,8	+48,1	+51,3	+26,3	+29,5
Аспарагин	−7,4	+37,8	—	+45,2	—
Аспарагиновая кислота	+6,7	+33,8	—	+27,1	—
Бутирин	+9,6	+21,2	+43,3	+11,6	+33,7
Каприлин	+14,5	+36,6	+50,9	+22,1	+36,4
Цитруллин	+7,0	+42,4	+30,7	+35,4	+23,7
β-Циклогексилаланин	−15,4	+25,7	+46,2	+41,1	+61,6
α-Циклогексилглицин	+10,5	+55,8	+102,2	+45,3	+91,7
Цистеин	−20,0	+7,9	+15,7	+27,9	+35,7
2,5-Диоксифенилаланин	−86,0	−17,4 [в]	—	+68,6	—
Этионин	−15,0	+38,7	+29,3	+53,7	+44,3
Глутаминовая кислота	+17,7	+46,8	—	+29,1	—
Глутамин	+9,2	+46,5 [в]	—	+36,3	—
Гептилин	+9,9	+33,8	+47,9	+23,9	+38,0
Гистидин [б]	−59,8	+18,3	+11,6	+78,1	+71,4
Гомоглутамин	+4,1	+33,2 [в]	—	+29,1	—
Гомосерин	−10,5	+21,8 [г]	+14,3 [г]	+32,3	+24,8
ε-Оксинорлейцин	+5,9	+34,9	+57,4	+29,0	+51,5
δ-Оксинорвалин	+8,0	+38,3	+46,6 [г]	+30,3	+38,6
Лейцин	−14,4	+21,0	+29,5	+35,4	+43,9
трет-Лейцин	−12,7	+9,7	+47,2	+22,4	+59,9
Лизин [б]	+19,7	+37,9	—	+18,2	—
Метионин	−14,9	+34,6	+29,8	+49,5	+44,7
Норлейцин	+6,2	+32,1	+47,9	+25,9	+41,7
Норвалин	+8,2	+28,2	+41,0	+20,0	+32,8
Орнитин [б]	+16,0	+37,5	—	+21,5	—
β-Фенилаланин	−57,0	−7,4	−12,4	+49,6	+44,6
γ-Фенилбутирин	+35,8	+87,4 [в]	—	+51,6	—
α-Фенилглицин	+172,4	+254,0	—	+81,6	—
Пипеколиновая кислота	−33,6	−17,2	—	+16,4	—
Пролин	−99,2	−69,5	−92,1	+20,7	+7,1
Серин	−7,9	+15,9	—	+23,8	—
Триптофан	−68,8	+13,0 [в]	−69,4	+81,8	−0,6
Валин	+6,6	+33,1	+72,6	+26,5	+66,0

Продолжение табл. 14

L-Аминокислота	$[M]_D^{24-26}$ [а]				
	в воде	в 5 н. HCl	в ледяной AcOH	$[M]_{HCl}-[M]_{H_2O}$	$[M]_{AcOH}-[M]_{H_2O}$
Моноасимметрические α-метиламинокислоты					
Изовалин	+13,1	+7,8	+26,3	−5,3	+13,2
α-Метилсерин	−5,4	−2,4	—	+3,0	—
Диасимметрические α-аминокислоты					
α, ε-Диаминопимелиновая кислота	+15,4	+85,8	—	+70,4	—
γ-Оксиглутаминовая кислота	+31,8	+61,6	—	+29,8	—
γ-*алло*-Оксиглутаминовая кислота	−22,3	+5,0	—	+27,3	—
δ-Оксилизин [б]	+14,9	+28,9	—	+14,0	—
δ-*алло*-Оксилизин	+17,7	+50,9	—	+33,2	—
трео-β-Оксинорлейцин	+6,8	+27,4	—	+20,6	—
эритро-β-Оксинорлейцин	−2,9	+39,9	—	+42,8	—
γ-Оксипролин	−99,6	−66,2	−100,9 [д]	+33,4	−1,3
γ-*алло*-Оксипролин	−78,0	−24,7	−39,3	+53,3	+38,7
Изолейцин	+16,3	+51,8	+64,2	+35,5	+47,9
алло-Изолейцин	+20,8	+51,9	+55,7	+31,1	+34,9
Метионин-*l*-сульфоксид	−118,4	−95,2	—	+23,2	—
Метионин-*d*-сульфоксид	+163,5	+210,0	—	+46,5	—
О-Метилтреонин	−50,6	−18,2	—	+32,4	—
алло-О-Метилтреонин	+10,6	+40,6	—	+30,0	—
β-Фенилсерин	−60,0	−91,1	−92,6	−31,1	−32,6
β-*алло*-Фенилсерин	+14,9	+147,3	+108,8	+132,4	+93,8
Треонин	−33,9	−17,9	−35,7	+16,0	−1,8
алло-Треонин	+11,9	+37,8	+45,3 [д]	+25,9	+33,4

[а] Концентрация, за исключением особо оговоренных случаев, 0,5–2%.
[б] Данные пересчитаны на свободное основание. Значения для водных растворов получены после нейтрализации хлоргидратов.
[в] В 1 н. HCl.
[г] Свежеприготовленные растворы.
[д] 0,25%-ные растворы.

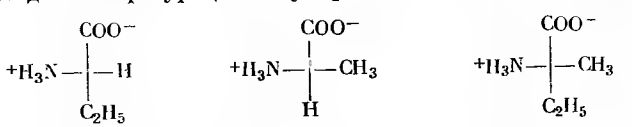
этой аминокислоты, то последняя имеет L-*конфигурацию; отрицательное направление сдвига является характерным для* D-*аминокислот*. Это положение было названо впоследствии *правилом Клафа — Луца — Иргенсонса*.

Хотя изменение в направлении вращения при переходе от водных растворов к растворам в 5 н. HCl или ледяной уксусной кислоте происходит у большинства аминокислот, сделанные впоследствии определения молекулярного вращения примерно шестидесяти L-аминокислот показали, что существует ряд исключений из эмпирического *правила Клафа — Луца — Иргенсонса* [109, 123]. Результаты этих определений приведены в табл. 14. Из данных этой таблицы видно, что, за исключением L-изовалина и *трео*-формы β-фенил-L-серина, все изученные аминокислоты в согласии с вышеприведенным

правилом имеют положительное значение $[M]_{HCl} - [M]_{H_2O}$. Вращение L-форм «аномальных» аминокислот, конфигурация которых была определена независимо энзиматическим методом, при добавлении соляной кислоты к их водным растворам сдвигается влево. При сравнении значений $[M]_D$ в воде и ледяной уксусной кислоте можно отметить, что три аминокислоты, а именно L-треонин, L-триптофан и L-оксипролин, имеют практически одно и то же значение вращения в обоих растворителях, а все остальные, включая в данном случае L-изовалин, но исключая *трео*-β-фенил-L-серин, приобретают более сильное положительное вращение в уксусной кислоте. Наличие этих исключений может привести к мысли, что *правило определения конфигурации Клафа — Луца — Иргенсонса* в его настоящей форме имеет в лучшем случае лишь ограниченное значение. Однако сделанный ниже детальный разбор этих исключений будет способствовать установлению тех границ, в которых это правило может применяться с высокой степенью надежности.

Изовалин как исключение из правила. Хотя, как показано Эрлихом и Венделем [133], биологические свойства, проявляемые (+)-изовалином, сходны со свойствами L-аминокислот, последние данные [124] свидетельствуют, что вопреки ожиданиям водный раствор этого изомера дает слабый отрицательный сдвиг оптического вращения при добавлении соляной кислоты.

Расщепление DL-изовалина на оптические антиподы стереоспецифическим гидролизом его хлорацетильного производного ацилазой I из почек свиньи [134] показало в согласии с ранее полученными данными [133], что (+)-изовалин столь же чувствителен к метаболическим превращениям, как и L-аминокислоты белкового происхождения. Исходя из этого, можно полагать, что, по-видимому, существует достаточно отчетливое расхождение между данными о конфигурации (+)-изовалина, основанными на интерпретации данных по энзиматическому действию [134] и на данных по влиянию ионизации на молекулярное вращение [123]. Рассмотрение приведенных ниже формул ясно показывает, как могла возникнуть такая неопределенность. Приведенная здесь конфигурация L-бутирина и D-аланина отвечает правилам,



L-Бутирин D-Аланин (+)-Изовалин

принятым для изображения фишеровских проекций. (+)-Изовалин изображен так, чтобы соответствовать введенному ранее определению [135], согласно которому α-метильная группа этой аминокислоты занимает то же положение, что и α-атом водорода у L-аминокислоты. Ясно, что (+)-изовалину может быть приписана L- или D-конфигурация в зависимости от того, как его рассматривать — производным L-бутирина или D-аланина. Иначе говоря, его можно альтернативно рассматривать как α-метил-L-бутирин или как α-этил-D-аланин. С этой точки зрения бессмысленно определять принадлежность аминокислот, в которых вместо α-атома водорода находится алкильный заместитель, к L- или к D-ряду, основываясь на данных оптического вращения; очевидно, что интерпретация такого рода данных может быть сделана лишь для α-аминокислот, содержащих α-атом водорода.

Во избежание неопределенностей при приписании конфигураций Нейбергер [97] предложил обозначать D- или L-конфигурацию лишь в тех случаях, когда в аминокислоте атом водорода связан с α-асимметрическим С-атомом. Хотя многое можно было бы сказать в пользу этого предложения, рассматривая его с физико-химической точки зрения, тем не менее приписание D- или L-конфигурации аминокислотам, содержащим алкильную группу вместо атома водорода, может иметь значение с точки зрения их биологического поведения. Так, отнесение изовалина к D- или L-ряду становится весьма важным, поскольку его поведение в биологических системах известной стереохимической специфичности может быть связано с поведением других аминокислот известной конфигурации по отношению к тем же биологическим системам. На этом основании D- или L-обозначение аминокислот типа изовалина может быть законным образом сохранено. Обсуждение применения биологических систем для определения стереохимической конфигурации α-аминокислот будет дано ниже (разделы 16—22).

Парциальные доли молярного вращения диасимметрических аминокислот. Одно из классических исследований Хадсона [113] посвящено определению значения *принципа оптической суперпозиции* Вант-Гоффа в ряду сахаров. Хадсон сформулировал правило (*правило изовращения*), согласно которому разность величин вращения изомерных сахаров, отличающихся только конфигурацией данного асимметрического центра, является постоянной величиной. Хотя это модифицированное правило оптической суперпозиции и не является общеприменимым, оно хорошо оправдывается для ряда близких структур. Сходное правило недавно сформулировано для аминокислот, содержащих более одного асимметрического центра [124].

Вращение диастереомерных аминокислот с двумя центрами оптической асимметрии — α и ω — может быть выражено как функция суммы вкладов (парциальных долей вращения) каждого центра. α-Асимметрический центр аминокислоты L-конфигурации должен вносить такой же вклад в общее молярное вращение, как и соответствующий центр L-*алло*-формы этой аминокислоты, а вклад ω-асимметрического центра каждого из L-диастереоизомеров должен быть одинаковым по величине, но противоположным по знаку. Поэтому парциальную долю молярного вращения асимметрического α-атома углерода можно вычислить, разделив пополам алгебраическую сумму молярных вращений L- и L-*алло*-форм:

$$\alpha_L = \alpha_{L\text{-алло}} = 0{,}5([M]_L + [M]_{L\text{-алло}}).$$

Точно так же половина алгебраической суммы молярных вращений L- и D-*алло*-форм должна дать парциальную долю молярного вращения асимметрического ω-атома углерода:

$$\omega_L = -\omega_{L\text{-алло}} = 0{,}5([M]_L - [M]_{D\text{-алло}}).$$

Суммы $\alpha_L + \omega_L$ или $\alpha_L + \omega_{L\text{-алло}}$ будут, следовательно, равны молярному вращению соответственно L- или L-*алло*-форм.

Определив в результате этих вычислений значения α и ω в воде и в соляной кислоте, можно получить значения $\alpha_{HCl} - \alpha_{H_2O}$ и $\omega_{HCl} - \omega_{H_2O}$, которые выражают чистую разность в сдвиге вращения при переходе от водных к солянокислым растворам соответственно для α- и ω-центров. Сумма $(\alpha_{HCl} - \alpha_{H_2O}) + (\omega_{HCl} - \omega_{H_2O})$, следовательно, равна наблюдаемому сдвигу вращения. Ясно, что для аминокислот, имеющих лишь один центр асимметрии, этот сдвиг зависит лишь от значения $\alpha_{HCl} - \alpha_{H_2O}$.

β-Фенилсерин как исключение из правила. В табл. 15 представлены результаты вычислений парциальных молярных долей вращения α и ω для L- и L-*алло*-форм одиннадцати пар диастереомерных аминокислот в водном растворе и в 5 н. HCl [124]. Стереоизомеры γ-оксиглутаминовой кислоты

Таблица 15

Вклад α- и ω-асимметрических атомов углерода и значение молярного вращения диастереоизомерных аминокислот
(ср. с работой [124])

L-Аминокислота	$[M]_D^{23}$		Молярное вращение							$\alpha_{HCl}-\alpha_{H_2O}+\omega_{HCl}-\omega_{H_2O}$
	в H_2O[а]	в 5н. HCl[б]	α в H_2O	α в 5н. HCl	$\alpha_{HCl}-\alpha_{H_2O}$	ω в H_2O	ω в 5н. HCl	$\omega_{HCl}-\omega_{H_2O}$	
γ-Оксиглутаминовая кислота	+31,8	+61,6	+4,8	+33,3	+28,5	+27,1	+28,3	+1,2	+29,7
γ-*алло*-Оксиглутаминовая кислота	-22,3	+5,0	+4,8	+33,3	+28,5	-27,1	-28,3	-1,2	+27,3
δ-Оксилизин	+14,9[б]	+28,9[б]	+16,3	+39,9	+23,6	-1,4	-11,0	-9,6	+14,0
δ-*алло*-Оксилизин	+17,7[б]	+50,9[б]	+16,3	+39,9	+23,6	+1,4	+11,0	+9,6	+33,2
трео-β-Оксинорлейцин	+6,8	+27,4	+2,0	+33,7	+31,7	+4,9	-6,3	-11,2	+20,5
эритро-β-Оксинорлейцин	-2,9	+39,9	+2,0	+33,7	+31,7	-4,9	-6,3	+11,2	+42,9
5-Оксипипеколиновая кислота	-33,5	-19,7[в]	-39,3	-18,2	+21,1	+5,8	-1,5	-7,3	+13,8
5-*алло*-Оксипипеколиновая кислота	-45,1	-16,7[г]	-39,3	-18,2	+21,1	-5,8	-1,5	+7,3	+28,4
γ-Оксипролин	-99,6	-66,2	-88,8	-45,5	+43,3	-10,8	-20,8	-10,0	+33,3
γ-*алло*-Оксипролин	-78,0	-24,7	-88,8	-45,5	+43,3	+10,8	+20,8	+10,0	+53,3
Изолейцин	+16,3	+51,8	+18,6	+51,9	+33,3	-2,3	-0,1	+2,2	+35,5
алло-Изолейцин	+20,8	+51,9	+18,6	+51,9	+33,3	+2,3	+0,1	-2,2	+31,1
Метионин-*l*-сульфоксид	-118,4	-95,2	+22,6	+57,4	+34,8	-141,0	-152,6	-11,6	+23,2
Метионин-*d*-сульфоксид	+163,5	+210,0	+22,6	+57,4	+34,8	+141,0	+152,6	+11,6	+46,4
О-Метилтреонин	-50,6	-18,2	-20,0	+11,2	+31,2	-30,6	-29,4	+1,2	+32,4
алло-О-Метилтреонин	+40,6	+40,6	-20,0	+11,2	+31,2	+30,6	+29,4	-1,2	+30,0
β-Фенилсерин	-60,0	-91,1	-22,6	+28,1	+50,7	-37,5	-119,2	-81,7	-31,0
β-*алло*-Фенилсерин	+14,9	+147,3	-22,6	+28,1	+50,7	+37,5	+119,2	+81,7	-132,4
Треонин	-33,9	-17,9	-11,0	+10,0	+21,0	-22,9	-27,9	-5,0	+16,0
алло-Треонин	+11,9	+37,8	-11,0	+10,0	+21,0	+22,9	+27,9	+5,0	+26,0
трео-α-Амино-β, γ-диокси-*н*-масляная кислота	-18,8	-2,5[д]	-20,4	+14,5	+34,9	+1,6	-17,0	-18,6	+16,3
эритро-α-Амино-β, γ-диокси-*н*-масляная кислота	-21,9	+31,5[д]	-20,4	+14,5	+34,9	-1,6	-17,0	-18,6	+53,5

а Концентрация 1—2%. б) Хлоргидрат; пересчитано на свободное основание. в) Хлоргидрат, в воде. г) Бромгидрат, в воде. д) В 3 экв. HCl.

[136], δ-оксилизина [137], β-оксинорлейцина [138], 5-оксипипеколиновой кислоты [132], изолейцина [139], О-метилтреонина [140], β-фенилсерина [141], треонина [142] и α-амино-β,γ-диокси-*н*-масляной кислоты (см. раздел 41) были получены действием стереоспецифических ферментов на чистые соответствующим образом замещенные DL- и DL-*алло*-формы или на DL-эпимеры, содержащие ω-атом углерода требуемой конфигурации. Применяя в основных чертах ту же методику, что и методика, разработанная Нейбергером [97], из природного L-оксипролина инверсией конфигурации у C_4-центра был получен *алло*-стереомер, а рацемизацией этого соединения с последующей фракционной кристаллизацией и C_4-инверсией — D-изомер [143].

Стереоизомеры метионинсульфоксида были получены окислением L-метионина перекисью и последующим разделением полученной смеси эпимерных L-метионин-*l*-сульфоксида и L-метионин-*d*-сульфоксида путем фракционной кристаллизации их пикратов из метанола [144]. Следует особо подчеркнуть, что диастереомерные аминокислоты, используемые для вычисления парциального вращения, должны обладать высокой степенью аналитической и оптической чистоты, поскольку присутствие примесей может привести к совершенно неправильному значению оптического вращения, что в свою очередь может затруднить интерпретацию данных. Обычный способ определения оптической частоты с помощью оксидазы или декарбоксилазы аминокислот [145] показал, что значения оптического вращения, на которых основаны приведенные вычисления, были в большинстве случаев определены на образцах, содержащих менее 1 части одного из возможных изомеров на 1000 частей другого (гл. 6).

Рассмотрение данных, приведенных в табл. 15, показывает, что для всех изученных аминокислот, за исключением β-фенил-L-серина, наблюдается положительный сдвиг вращения $(\alpha_{HCl} - \alpha_{H_2O}) + (\omega_{HCl} - \omega_{H_2O})$. Эти данные указывают на явное несоответствие между результатами, полученными при определении конфигурации β-фенил-L-серина энзиматическим методом [139] и методом, основанном на зависимости молекулярного вращения от ионизации [123]. Дальнейшее изучение данных этой таблицы показывает, однако, что во всех случаях, за исключением фенил-L-серина и его L-*алло*-изомера, при переходе от водных растворов к растворам в кислоте сдвиг парциального молярного вращения α-асимметрического центра имеет большую величину, чем сдвиг ω-центра. Поэтому, хотя парциальное молярное вращение ω-асимметрического центра этих аминокислот может смещать величину вращения в любом направлении, этот сдвиг не столь велик, чтобы определять направление вращения соединения в целом. Кажущееся аномальное поведение β-фенилсерина можно объяснить очень большим отрицательным H_2O — — HCl-сдвигом парциального молярного вращения ω-атома углерода, что полностью маскирует меньший по величине сдвиг в положительном направлении, вызываемый α-асимметрическим центром. Соответствие же поведения β-*алло*-фенилсерина эмпирическому *правилу Клафа — Луца — Иргенсонса* объясняется тем, что H_2O — HCl-сдвиг парциального молярного вращения ω-асимметрического атома углерода в этом случае направлен в ту же сторону, что и сдвиг, вызываемый асимметрическим α-атомом углерода. Действительно, для аминокислот, имеющих два центра асимметрии, общим является то, что одна или обе диастереомерные L-формы оказываются более правовращающими в кислоте, чем в воде.

Эти рассуждения могут быть обобщены следующим образом: *Оптически активная аминокислота, содержащая более одного асимметрического центра, имеет L-конфигурацию, если при добавлении кислоты к ее водному раствору парциальное молярное вращение α-асимметрического центра становится*

более положительным; если наблюдается отрицательный сдвиг вращения α-асимметрического центра, то аминокислота имеет D-*конфигурацию*. Это положение, оправдывающееся для всех изученных до сих пор аминокислот, содержащих два асимметрических центра, называется *правилом сдвигов парциального вращения*. Его приложение к особому случаю определения конфигурации α-центра каждого из четырех стереомеров α-аминотрикарбаллиловой кислоты будет рассмотрено ниже.

Парциальные доли молярного вращения в растворе ледяной уксусной кислоты. В табл. 16 приведены вычисленные значения парциальных долей молярного вращения L-форм различных диастереомерных аминокислот в растворах ледяной уксусной кислоты. Значения молекулярного вращения этих соединений были определены ранее [123]. Оказалось, что L-треонин и L-оксипролин как в воде, так и в уксусной кислоте имеют практически одинаковые значения молекулярного вращения. Сравнение значений $\alpha_{AcOH} - \alpha_{H_2O}$ и $\omega_{AcOH} - \omega_{H_2O}$ каждого из этих соединений показывает, что они почти одинаковы по величине, но противоположны по знаку. Поэтому сумма $(\alpha_{AcOH} + \alpha_{H_2O}) + (\omega_{AcOH} - \omega_{H_2O})$ не сильно отличается от нуля, что отражает незначительный сдвиг наблюдаемого молярного вращения при переходе от водных растворов к растворам в уксусной кислоте. Однако следует отметить, что значения $\alpha_{AcOH} - \alpha_{H_2O}$ в обоих случаях положительны, что согласуется с приведенными ранее данными [123] относительно параллелизма оптического поведения аминокислот в уксуснокислых и солянокислых растворах и поведения их в водных растворах. Следовательно, вышеприведенное *правило сдвигов парциального вращения* применимо к $H_2O \rightarrow AcOH$-системам так же, как и к $H_2O \rightarrow HCl$-системам.

Таблица 16

Вклад асимметрических α- и ω-атомов углерода в молярное вращение (в градусах) диастереомерных кислот [124]

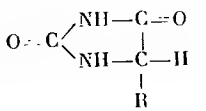
L-Аминокислота	$[M]_D^{25}$ в H_2O	$[M]_D^{25}$ в $AcOH^a$	Молярное вращение: α в H_2O	α в AcOH	$\alpha_{AcOH} - \alpha_{H_2O}$	ω в H_2O	ω в AcOH	$\omega_{AcOH} - \omega_{H_2O}$	$(\alpha_{AcOH} - \alpha_{H_2O}) + (\omega_{AcOH} - \omega_{H_2O})$
Изолейцин	+16,3	+64,2	+18,6	+60,0	+41,4	−2,3	+4,3	+6,6	+48,0
алло-Изолейцин	+20,8	+55,7	+18,6	+60,0	+41,4	+2,3	−4,3	−6,6	+34,8
Треонин	−33,9	−35,7	−11,0	+4,8	+15,8	−22,9	−40,5	−17,6	−1,8
алло-Треонин	+11,9	+45,3	−11,0	+4,8	+15,8	+22,9	+40,5	+17,6	+33,4
Оксипролин	−99,6	−100,9	−88,8	−70,1	+18,7	−10,8	−30,8	−20,0	−1,3
алло-Оксипролин	−78,0	−39,3	−88,8	−70,1	+18,7	+10,8	+30,8	+20,0	+38,7
Фенилсерин	−60,0	−92,6	−22,6	+8,1	+30,7	−37,5	−100,7	−63,2	−32,5
алло-Фенилсерин	+14,9	+108,7	−22,6	+8,1	+30,7	+37,5	+100,7	+63,2	+93,9

[a] Вращение измерено в трубке длиной 20 см, концентрация 0,25—2,0%

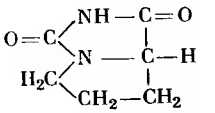
Оценка метода. Параллелизм в поведении конфигурационно сходных α-аминокислот в воде и в соляной кислоте в соответствии с *правилом Клафа — Луца — Иргенсонса* обнаружен для всех изученных моноасимметрических α-амино- и α-иминокислот. Такое же положение сохраняется и при изучении оптического поведения соответственно водных и уксуснокислых растворов этих соединений. Лишь для L-триптофана значения оптического вращения не поддаются однозначной интерпретации. Распространение этого правила на *диасимметрические* аминокислоты допустимо, если оно касается лишь сдвигов парциального молярного вращения α-асимметрического центра (*правило сдвигов парциального вращения*). Поскольку это уточненное правило не имеет исключений в ряду почти шестидесяти испытанных аминокислот, его можно считать достаточно надежной основой при определении конфигураций α-асимметрических центров.

12. Сдвиги вращения, вызванные замещением. Сходство оптического поведения производных аминокислот одного с ними конфигурационного ряда было вначале использовано для того, чтобы установить L-конфигурацию аминокислот белкового происхождения, таких, как лейцин, глутаминовая кислота, валин, тирозин и лизин. Хотя применяемые для этого методы могут различаться по своему подходу к проблеме, все они основаны либо а) на непосредственной зависимости между стереохимической конфигурацией и направлением оптического вращения *данного производного*, либо б) на характеристической положительной или отрицательной разности значений молекулярного вращения, существующей между членами *гомологического ряда* или между некоторыми *производными аминокислот* одинакового конфигурационного ряда. Следовательно, приписание D- или L-конфигурации исходной аминокислоте может быть осуществлено или однократным определением оптического вращения, или рядом определений в зависимости от производного и избранного метода. Несмотря на практические различия, существующие между разными методами, все они основаны на количественном применении концепции оптической суперпозиции. Однако именно из-за этих различий в следующих подразделах каждый метод рассматривается отдельно.

Гидантоины. В 1918 г. Клаф [102] показал, что для решения конфигурационных задач могут быть использованы гидантоины, обладающие очень большим отрицательным значением оптического вращения. На этой основе оказалось достаточным одного лишь определения величины вращения оптически активного гидантоина (V), чтобы установить конфигурацию исходной аминокислоты. В дальнейшем ряд исследователей подтвердили этот вывод и показали применимость метода не только к гидантоинам α-аминокислот (V), но и к гидантоинам α-иминокислот типа пролина (VI) и оксипролина [146—153]. Его использование позволило Лейте [154] в 1932 г. установить правильные конфигурации антиподов пипеколиновой кислоты. В 1948 г. Нейбергер [97] суммировал имеющиеся по этому вопросу данные, которые воспроизводятся в табл. 17.



V



VI

Интересно отметить, что этот метод оправдывается независимо от типа растворителя, используемого для оптических измерений. Хотя имеющихся в настоящее время данных еще недостаточно, чтобы окончательно принять эту концепцию, можно с определенностью утверждать, что *левовращающие*

Таблица 17

Молекулярное вращение гидантоинов L-аминокислот [97]

L-Гидантоины	$[M]_D$, градусы	Растворитель	Литература
Аланин	—58	Вода	146
Аспарагинова кислота	—198	1н.NaOH	147
Цистин	—1192	Пиридин	148
Глутаминова кислота	—136	1н.NaOH	147
Оксипролин	—151	Вода	149
Лейцин	—148	50%-ный EtOH	147
п-Метоксифенилаланин	—196	95%-ный EtOH	150
Фенилаланин	—183	50%-ный EtOH	147
α-Фенилглицин	—235	1н.NH_3	151
Пипеколинова кислота	—141	Вода	154
Пролин	—334	»	152
Тирозин	—292	1н.NaOH	153

гидантоины являются производными α-амино- или циклических α-иминокислот L-ряда, тогда как правовращающие гидантоины получаются из соединений D-ряда.

Глицинсодержащие пептиды. В той же работе, где было описано поведение оптически активных гидантоинов, Клаф [102] утверждал, что все оптически активные дипептиды, содержащие N-концевой остаток L-аминокислоты и С-концевой глицин, т. е. $NH_2CHRCONHCH_2CO_2H$, имеют положительное направление вращения. Однако этот вывод, основанный на данных по вращению всего лишь шести различных дипептидов, не выдержал проверки временем, что видно из данных, приведенных во второй графе табл. 18. В этой таблице сведены данные молекулярного вращения двадцати различных α-аминоацилглицинов, причем три из них не подчиняются выводу Клафа, а именно дипептиды, содержащие в качестве N-концевых аминокислот остатки L-цистина, L-пролина и L-оксипролина. Все же, если влияние остатка глицина, вводимого в карбоксильные группы различных L-аминокислот, оценивать, вычитая значение $[M]_D$ исходной аминокислоты из значения $[M]_D$ соответствующего дипептида, определенных в *одинаковых растворителях*, разность во всех случаях оказывается положительной (табл. 18). Это явление напоминает обсуждавшийся ранее (раздел 11) положительный сдвиг молекулярного вращения, наблюдающийся при подкислении водных растворов L-аминокислот, и также может быть использовано с целью определения конфигурации. Указанная закономерность может быть выражена следующим образом:

$$\text{L-аминокислоты: } [M]_{\text{пептид}} - [M]_{\text{аминокислота}} = +\Delta[M],$$

$$\text{D-аминокислоты: } [M]_{\text{пептид}} - [M]_{\text{аминокислота}} = -\Delta[M],$$

где под пептидом подразумевается соответствующий α-аминоацилглицин.

Сходное положение возникает, если вместо остатка глицина С-концевая группа аминокислоты замещена остатком глицилглицина, хотя в этом отношении имеется значительно меньше данных (табл. 18). Во всяком случае, с известной степенью достоверности можно утверждать, *что С-концевое замещение оптически активной кислоты остатком глицина приводит к положи-*

Таблица 18

Сдвиги молекулярного вращения, вызываемые превращением L-аминокислоты в соответствующий L-α-аминоацилглицин

Пептид: соединение	Пептид: $[M]_D$, градусы[а]	L-Аминокислота: соединение	L-Аминокислота: $[M]_D$, градусы[а]	$[M]_{пептида} - [M]_{аминокислоты}$
L-α-*Аминоацилглицины*				
Аланилглицин [155]	+20,1	Аланин	+1,6	+18,5
Аргинилглицинсульфат [156]	+32,8	Аргинин·HCl[д]	+21,8	+11,0
Аспарагинилглицин [157]	+100,2	Аспарагин	—7,4	+107,6
α-Аспарагилглицин [158]	+62,5[б]	Аспарагиновая кислота	+33,8[в]	+28,7
Цистеинилглицин·HCl [159]	+38,3	Цистеин·HCl[д]	—20,0	+58,3
Цистинил-*бис*-глицин [160][г]	—255,4	Цистин[г]	—533,6	+278,2
Глутаминилглицин [161]	+154,3	Глутамин	+9,2	+145,0
α-Глутамилглицин [162]	+163,8	Глутаминовая кислота	+17,7	+146,1
Гистидилглицин [163]	+53,0	Гистидин	—59,8	+112,8
Оксипролилглицин [164]	—42,1	Оксипролин	—99,6	+27,5
Изолейцилглицин [165]	+63,2	Изолейцин	+16,2	+47,0
Лейцилглицин [166]	+161,3	Лейцин	—14,4	+175,7
Лизилглицин [155]	+63,1[в]	Лизин·HCl[д]	+37,9[в]	+25,2
Метионилглицин [167]	+178,8	Метионин	—14,9	+193,7
Фенилаланилглицин [168]	+187,4	Фенилаланин	—57,0	+244,4
Пролилглицин [169]	—34,1	Пролин	—99,2	+65,1
Серилглицин [170]	+48,1[г]	Серин	+15,3[г]	+32,8
Триптофилглицин [171]	+205,4	Триптофан	—68,8	+264,2
Тирозилглицин [172]	+166,6	Тирозин	Отриц.	>+166,6
Валилглицин [173]	+164,7	Валин	+6,6	+158,1
L-α-*Аминоацилглицилглицины*				
Аланилглицилглицин [174]	+65,8	Аланин	+1,6	+64,2
Цистинил-*бис*-(глицилглицин) [175]	—216,7[г]	Цистин	—533,6[г]	+316,9
Оксипролилглицилглицин [176]	—32,3	Оксипролин	—99,6	+67,3
Лейцилглицилглицин [177]	+141,4	Лейцин	—14,4	+158,8
Метионилглицилглицин [167]	+192,3	Метионин	—14,9	+207,2
Фенилаланилглицилглицин [178]	+221,5	Фенилаланин	—57,0	+278,5
Пролилглицилглицин [176]	—50,6	Пролин	—99,2	+48,6
Серилглицилглицин [179]	+71,6[г]	Серин	+15,3[г]	+56,3
Тирозилглицилглицин [180]	+126,3[в]	Тирозин	—18,1[в]	+144,4

[а] Все измерения, за исключением особо оговоренных случаев, проведены в водных растворах.

[б] К водному раствору добавляли 1 экв. HCl.

[в] В 5—6 н. HCl.

[г] В 1 н. HCl.

[д] В пересчете на основание.

тельному сдвигу первоначального молекулярного вращения, если исходная аминокислота имеет L-конфигурацию; отрицательный сдвиг означает, что эта аминокислота имеет D-конфигурацию.

Хотя введение остатка глицина в качестве С-концевого компонента в остаток оптически активной аминокислоты приводит к совершенно определенной зависимости между конфигурацией этой аминокислоты и направлением сдвига молекулярного вращения, вызываемого замещением, невозможно установить сходной зависимости при введении остатка глицина в качестве N-ацильной группировки. Этот вывод основан на изучении молекулярного вращения шестидесяти различных глицил-L-аминокислот типа NH_2CH_2CO — $NHCHRCO_2H$ в воде, 5 н. HCl и ледяной уксусной кислоте [123]. Интересное явление наблюдалось, однако, при сравнении значений молекулярного вращения различных дипептидов в водных и в кислых растворах. Как видно из данных табл. 19, значения $[M]_D$ одних глицил-L-аминокислот более положительны в 5 н. HCl, чем в воде, для других же наблюдается обратная картина. Поэтому в системе H_2O — 5 н. HCl отсутствует постоянная зависимость между конфигурацией и направлением сдвига молекулярного вращения. Однако сравнение значений $[M]_D$ в водных растворах и в ледяной уксусной кислоте показывает, что *все* эти соединения имеют более положительное значение вращения в последнем растворителе, чем

Таблица 19

Молекулярное вращение (в градусах) глицил-L-аминокислот в различных растворителях (ср. с работой [123])

Пептид	$[M]_D^{24-26}$ [а]			$[M]_{HCl}-[M]_{H_2O}$	$[M]_{AcOH}-[M]_{H_2O}$
	в воде	в 5 н. HCl	в лед. AcOH		
Глицил-L-аланин	—74,5	—92,0	—58,4	—17,5	+16,1
Глицил-L-аспарагиновая кислота	+23,8	+9,5	—[б]	—18,8	—
Глицил-L-бутирин	—49,6	—60,0	—24,0	—10,4	+25,6
Глицин-L-глутаминовая кислота	—13,9	—28,6	+20,4	—14,7	+34,3
Глицин-L-изолейцин	—26,5	—5,6	+32,0	+20,9	+58,5
Глицин-L-*алло*-изолейцин	—9,8	—0,0	+28,2	+9,8	+38,0
Глицил-L-метионин	—21,0	—47,2	—6,8	—26,2	+14,2
Глицил-L-норлейцин	—30,1	—42,7	—15,0	—12,6	+14,9
Глицил-L-норвалин	—47,9	—57,5	—20,9	—9,6	+27,0
Глицил-L-фенилаланин	+92,2	+63,3	+127,8	—28,9	+35,6
Глицил-L-серин	—11,7	+13,8	—[б]	+25,5	—
Глицил-L-треонин	—28,5	+5,3	+10,6	+33,8	+39,1
Глицил-L-триптофан	+35,3	+89,6	+150,2	+54,3	+114,9
Глицил-L-лейцин	—68,3	—68,7	—56,4	—0,4	+11,9
Глицил-L-тирозин	+104,8	+76,2	+142,9	—28,6	+38,1
Глицил-L-валин	—34,6	—21,8	+4,4	+12,8	+39,0

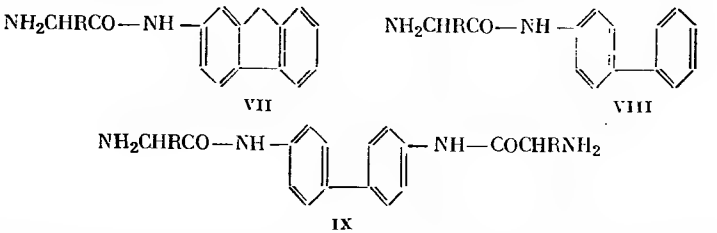
[а] Концентрации 0,5—2,0%. Все соединения легко растворялись при 25°. Использовали трубку длиной 20 см.

[б] Соединения нерастворимы.

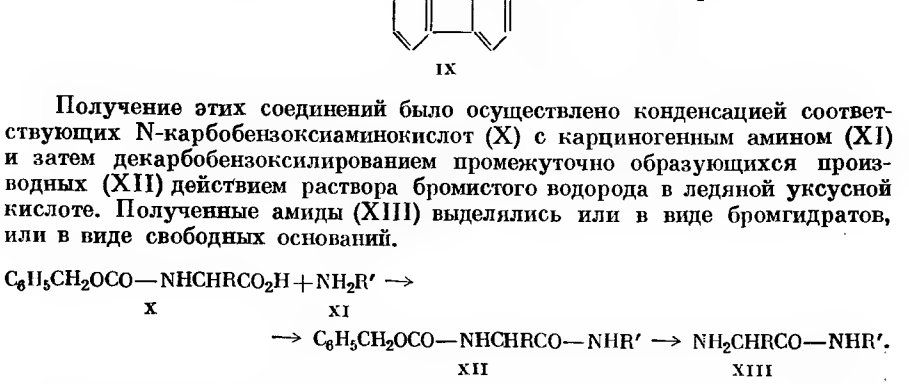
в первом (табл. 19). Относительное поведение глицил-L-аминокислот в воде и в уксусной кислоте может быть сопоставлено с описанным выше поведением незамещенных L-аминокислот в этих двух средах, выражаемое *правилом Клафа — Луца — Иргенсонса* (раздел 11). Поэтому пептиды этого типа могут оказаться полезными при определении конфигурации аминокислот.

Препаративные методы получения таких α-аминоацилглицинов и глициламинокислот приведены в гл. 5.

Амиды. В ходе исследований по энзиматической чувствительности производных карциногенных аминов получен ряд L- и D-аминокислотных аналогов 2-аминофлуорена (VII), 4-аминобифенила (VIII) и 4,4-диаминобифенила (IX) [181].



Получение этих соединений было осуществлено конденсацией соответствующих N-карбобензоксиаминокислот (X) с карциногенным амином (XI) и затем декарбобензоксилированием промежуточно образующихся производных (XII) действием раствора бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте. Полученные амиды (XIII) выделялись или в виде бромгидратов, или в виде свободных оснований.



Определение вращения бромгидратов в растворе метанола или свободных оснований в ледяной уксусной кислоте однозначно показало, что *производные аминокислот L-конфигурации имеют положительное удельное вращение, а производные D-аминокислот — отрицательное.* Это явление, по-видимому, возникает за счет доминирующего влияния парциального правого или левого вращения объемистого заместителя в амидной группе на суммарное вращение молекулы. Значения $[\alpha]_D$ двенадцати различных аминофлуореновых и одиннадцати 4-аминобифенильных аналогов L-аминокислот приведены в табл. 20. Данные для *бис*-L-аланил-(дибромгидрат)- и *бис*-L-лейцил-(основание)-производных бензидина, имеющих значения $[\alpha]_D$ соответственно +18° (в метаноле) и +130,0° (в ледяной CH_3COOH), показывают, что их поведение сходно с поведением производных аминофлуорена и аминобифенила. В целом все это свидетельствует, что амиды вышеуказанных типов можно с высокой степенью достоверности использовать для установления конфигурации L- и D-аминокислот.

Оптическое смещение. Если A *и* B, *являющиеся сходными производными двух различных аминокислот, изменяются одинаково с образованием соответственно соединений* A′ *и* B′ *и если при этом сдвиги молекулярного вращения* $[M]_{A'} - [M]_A$ *и* $[M]_{B'} - [M]_B$ *происходят в одном направлении, исходные аминокислоты имеют одинаковую конфигурацию.* Это положение является

Таблица 20

Удельное вращение (в градусах) 2-аминофлуореновых и 4-аминобифениловых производных некоторых L-аминокислот [181]

Производные 2-аминофлуорена б	$[\alpha]_D^{25}$ а	Производные 4-аминобифенила б	$[\alpha]_D^{25}$ а
L-Аланил-АФ-HBr	+11,0	L-Аланин-АБ-HBr	+12,5
L-Бутиринил-АФ-HBr	+32,0	L-Бутиринил-АБ-HBr	+38,0
L-Норвалил-АФ-HBr	+45,5	L-Норвалил-АБ-HBr	+43,0
L-Норлейцил-АФ-HBr	+52,0	L-Норлейцил-АБ-HBr	+49,5
S-Бензил-L-цистеинил-АФ-HBr	+117,0	S-Бензил-L-цистеинил-АБ-HBr	+103,0
L-Метионил-АФ (основ.)	+79,0	L-Валил-АБ-(основ.)	+72,0
L-Валил-АФ (основ.)	+75,0	L-Изолейцил-АБ (основ.)	+76,0
L-Лейцил-АФ-HBr	+53,0	L-Аллоизолейцил-АБ (основ.)	+81,0
L-Изолейцил-АФ-HBr	+70,0	L-Лейцил-АБ-HBr	+155,0
L-*Алло*-Изолейцил-АФ-(основ.)	+87,0	L-Фенилаланил-АБ (основ.)	+148,0
L-Фенилаланил-АФ-HBr	+146,0	L-Триптофил-АБ-HBr	+155,0
L-Триптофил-АФ-(основ.)	+194,0		

а Значения оптического вращения бромгидратов определены в растворе метанола, свободных оснований — в ледяной уксусной кислоте; c=1.

б АФ — 2-аминофлуорен; АБ—2-аминобифенил.

частью более широко приложимого правила сдвигов (*Versschiebungssatz*) Фрейденберга [7, 182]. Каррер в сотрудничестве с Ван-дер-Слейс-Вером [183] и Келем [184] установили, что изомеры лейцина, тирозина и валина белкового происхождения стереохимически эквивалентны. Результаты, полученные этими исследователями, приведены в табл. 21.

В этой таблице даны значения удельного вращения различных N-ацилированных производных (+)-гексагидрофенилаланина, (—)-лейцина и (+)-валина свободных кислот и их метиловых или этиловых эфиров. Поскольку первая из перечисленных аминокислот, как это было ранее показано Вазером и Браухли [31], имеет конфигурацию, идентичную конфигурации (—)-тирозина, то конфигурационные отношения (—)-тирозина с (+)-валином и (—)-лейцином следуют непосредственно из корреляции этих двух аминокислот с (+)-гексагидрофенилаланином. Изучение приведенных данных показывает, что сдвиг в направлении оптического вращения при переходе от одного производного к другому обычно (хотя и не всегда) одинаков для всех трех аминокислот. Это видно из сравнения значений вращения N-ацилированных производных этилового эфира валина со значениями соответствующих N-ацилированных производных метиловых эфиров лейцина или гексагидрофенилаланина. Однако аналогичное сравнение производных карбоновых кислот показывает, что у производных валина сдвиг, связанный с замещением бензоильных, бензолсульфонильных или толуолсульфонильных групп на β-нафтилсульфогруппу имеет отрицательное значение, тогда как у соответствующих производных гексагидрофенилаланина и лейцина он положителен. Поэтому соображения вышеприведенного типа из-за возможных аномалий не могут быть строгой корреляцией конфигурации, а скорее их следует рассматривать как обоснованное предположение.

Таблица 21

Значения удельного вращения различных производных гексагидрофенил-L-аланина, L-лейцина и L-валина

Соединение а	Производные гексагидрофенил-L-аланина		Производные L-лейцина		Производные L-валина	
	т. пл., °C	$[\alpha]_D^{20}$, градусы	т. пл., °C	$[\alpha]_D^{20}$, градусы	т. пл., °C	$[\alpha]_D^{20}$, градусы
N-Бензоиламинокислота	124,5	—12,7	—	—10,8	127	+17,2
N-*n*-Нитробензоиламинокислота	158,5—159	—5,0	219—220	—8,9	—	—
N-Бензолсульфониламинокислота	147,5	—2,3	119	—4,4	153	+19,5
N-Толуолсульфониламинокислота	160,5	+1,1	113,5	—4,1	147	+25,0
N-β-Нафтилсульфониламинокислота	185	+11,2	117,5—118	+1,7	173	+6,1
N-Бензоиламиноэфир б	104,5—105	—26,7	102	—21,1	82	—3,4
N-*n*-Нитробензоиламиноэфир б	72	—21,2	103,5	—16,9	88	+3,7
N-Бензолсульфониламиноэфир б	61—61,5	—21,9	64	—20,8	56	—1,0
N-Толуолсульфониламиноэфир б	114	—17,1	55	—16,0	59	+4,0
N-β-Нафтилсульфониламиноэфир б	99	—22,8	91,5—92	—31,1	99	—24,7

а Все определения оптического вращения сделаны в растворе этанола.

б В ряду производных гексагидрофенилаланина и лейцина использовались метиловые эфиры, а в ряду валина—этиловые эфиры.

В связи с изложенным определенный интерес приобретает наблюдавшееся Доэрти, Тицманом и Бергманом [185] смещение оптического вращения в ряду ацилированных дегидропептидов (гл. 5). Эти исследователи отметили, что превращение какой-либо ацетилдигидрофенилаланил-L-аминокислоты (XIV) в соответствующую ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-L-аминокислоту (XV) сопровождалось заметным сдвигом первоначального молекулярного вращения в сторону более отрицательных значений. Данные для различных

$$CH_3CO-NH\overset{\overset{\displaystyle CHC_6H_5}{\|}}{C}CO-NHCHRCO_2H \qquad CH_3CO-NH\overset{\overset{\displaystyle CHC_6H_5}{\|}}{C}CO-NH\overset{\overset{\displaystyle CHC_6H_5}{\|}}{C}CO-NHCHRCO_2H$$

XIV XV

исследованных ими соединений приведены в табл. 22. Поскольку ненасыщенные пептиды указанного типа могут существовать в различных геометрических *цис-транс*-формах, не исключено, что данные значения молекулярного вращения в действительности являются значениями вращательной способности смеси различных стереоизомерных форм. Тем не менее из этих данных следует, что вращение дегидропептидов является функцией как структуры активного аминокислотного остатка, так и числа имеющихся в пептиде ненасыщенных остатков. Однако из-за различия значений вращения, которое могут иметь разные стереоизомерные формы, не рекомендуется приписывать конфигурацию единственно лишь по закономерности оптического поведения соединений этого типа.

Таблица 22

Молекулярное вращение (в градусах) различных дегидропептидов [185] [а]

Остаток L-аминокислоты	Производное ацетилдегидрофенилаланина $[M]_A$	Производное ацетил-*бис*-дегидрофенилаланина, $[M]_B$	$[M]_B-[M]_A$
Аланин	+192	—1103	—1295
Цистин	—118	—776	—658
Глутаминовая кислота	—15	—875	—860
Лейцин	+118	—1137	—1255
Фенилаланин	+127	—855	—982
Пролин	+250	+222	—28
Тирозин	+166	—707	—873

[а] Область температур 28—33°.

Гомологические ряды. В 1898 г. Чугаев [186] показал, что *значения молекулярного вращения последовательных членов конфигурационно сходных гомологических рядов прогрессивно изменяются в одном направлении, стремясь к пределу или к максимуму, и мало изменяются по достижении максимального значения.* Это правило обычно называют *правилом удаленности* (distance rule). Согласно этому правилу, если, например, первый член гомологического ряда вращает влево, а третий — вправо, то значения вращения как первого, так и третьего должны быть соответственно более отрицательными и более положительными, чем вращение второго члена гомологического ряда. Опыт показывает, что хотя оптическое поведение членов гомологических рядов часто согласуется с этим правилом, его нельзя рассматривать как правило, не имеющее исключений. Это особенно видно из значений оптического вращения [109, 123] некоторых гомологических рядов аминокислот, которые, как показывают данные табл. 23, образуют более или менее правильную последовательность, за исключением аминокислот групп II и III, оптическое поведение водных растворов которых не подчиняется правилу удаленности. Тем не менее, несмотря на всегда существующую возможность случайных исключений, *правило удаленности* обычно с успехом применяется для выяснения конфигурации к определенным классам соединений, таких, как, например, жирные кислоты с длинной цепью [187]. Однако в ряду аминокислот оно имеет лишь ограниченное применение.

Выше уже упоминалось о доказательстве конфигурационной эквивалентности (+)-глутамина и (+)-γ-аминобутирина химическими методами. Определение стереохимических отношений между γ-аминобутирином, с одной стороны, и аминокислотой известной конфигурации — с другой, позволяет в свою очередь установить конфигурацию (+)-глутамина, а также образующейся при его гидролизе (+)-глутаминовой кислоты. Эта проблема была решена Каррером, Эшером и Видмером [59] в 1926 г. Они воспользовались уже известным фактом, что (+)-β-аминоаланин · HCl и L-аспарагин имеют одинаковую конфигурацию. Было проведено сравнение значений удельного вращения гомологических хлоргидратов (+)-β-аминоаланина, (+)-γ-аминобутирина, (+)-орнитина и (+)-лизина, а также дибензоилированных метиловых и этиловых эфиров каждой из этих аминокислот. Данные, приведенные в табл. 24, были интерпретированы в пользу стереохимической эквивалентности вышеперечисленных аминокислот. Основанием для

Таблица 23

Значения молекулярного вращения гомологических рядов L-аминокислот (ср. с работой [123])

Номер группы	L-Аминокислота	Молекулярное вращение $[M]_D^{24-26}$, градусы [а]		
		в воде	в 5 н. HCl	в AcOH
I	Аланин	+1,6	+13,0	+29,4
	Бутирин	+9,6	+21,2	+43,3
	Норвалин	+8,2	+28,2	+41,0
	Норлейцин	+6,2	+32,1	+47,9
	Гептилин	+9,9	+33,8	+47,9
	Октилин	+14,9	+36,6	+50,9
	Нонилин	—	+34,6	+58,0
	Децилин	—	—	+58,0
	Ундецилин	—	—	+58,3
	Додецилин	—	—	+52,3
II	Серин	—7,9	+15,9	—
	Гомосерин	—10,5	+21,8 [б]	+14,3 [б]
	δ-Оксинорвалин	+8,0	+38,3	+46,6 [б]
	ε-Оксинорлейцин	+5,9	+34,9	+57,4
III	Аспарагинова кислота	+6,7	+33,8	—
	Глутаминовая кислота	+17,7	+46,8	—
	α-Аминоадипиновая кислота	+5,2	+40,3	—
	α-Аминопимелиновая кислота	—	+37,6	—
IV	β-Аминоаланин · HCl · H_2O [в]	0,0 [г]	+35,4	—
	γ-Аминобутирин · HCl [в]	+8,5 [г]	+37,4	—
	Орнитин · HCl [в]	+16,0 [г]	+37,5	—
	Лизин · HCl [в]	+19,7 [г]	+37,9	—

[а] Концентрация 0,5—2%.
[б] Свежеприготовленный раствор.
[в] В пересчете на свободное основание.
[г] В присутствии 1 экв. NaOH.

Таблица 24

Значения удельного вращения некоторых аминомонокарбоновых кислот и соответствующих им эфиров дибензоилпроизводных [59], градусы

Аминокислоты	$[\alpha]_D$ хлоргидрата [а]	$[\alpha]_D$ метилового эфира дибензоилпроизводного [б]	$[\alpha]_D$ этилового эфира дибензоилпроизводного [в]
(+)-β-Аминоаланин · HCl	+25,0	—21,6	—13,3
(+)-γ-Аминобутирин · HCl	+8,2	—22,7	—11,7
(+)-Орнитин · HCl	+16,8	—13,2	—8,6
(+)-Лизин-2 · HCl	+15,3	—18,6	—16,2

[а] В воде.
[б] В метаноле.
[в] В этаноле

этого послужили следующие аргументы: а) все хлоргидраты свободных аминокислот в водном растворе вращают вправо; б) все дибензоилпроизводные метиловых эфиров вращают влево и имеют сравнимую величину удельного вращения; в) четыре этиловых эфира дибензоилпроизводных вращают влево, и все они имеют значения удельного вращения более низкие, чем соответствующие производные метиловых эфиров. Приписанная этим аминокислотам L-конфигурация полностью согласуется с принятой в настоящее время конфигурацией этих соединений.

Структурно-сходные соединения. Несколько необычный подход был использован Каррером, Егги и Такахаши [188] в 1925 г. для корреляции природного лейцина (XVI) и L-аспарагиновой кислоты (XIX). Обработка этилового эфира N-бензоилпроизводного (XVII) первой из этих аминокислот метилмагнийиодидом в эфирном растворе привела к 2,5-диметил-4-бензоиламино-5-оксигексану (XVIII) с $[\alpha]_D^{18}$ —40,8° (в этаноле). Аналогичная обработка диэтилового эфира N-бензоиласпарагиновой кислоты (XX) привела к 2,5-диметил-4-бензоиламино-2,5-диоксигексану (XXI; $[\alpha]_D^{18}$ —16,4°, в воде), который реакцией с хлористым тионилом или с муравьиной кислотой претерпевал частичную дегидратацию до 2,5-диметил-4-бензоиламино-5-оксигексена-1 (XXII), имеющего $[\alpha]_D^{18}$—36,3° (в этаноле). Поскольку оптическое поведение соединений XVIII и XXII оказалось почти одинаковым, а они структурно отличаются лишь наличием в последнем двойной связи, которая, как показали авторы, мало влияет на направление и величину вращения, был сделан вывод, что оба соединения конфигурационно эквивалентны. Тем самым была установлена стереохимическая корреляция между (—)-лейцином и L-аспарагиновой кислотой.

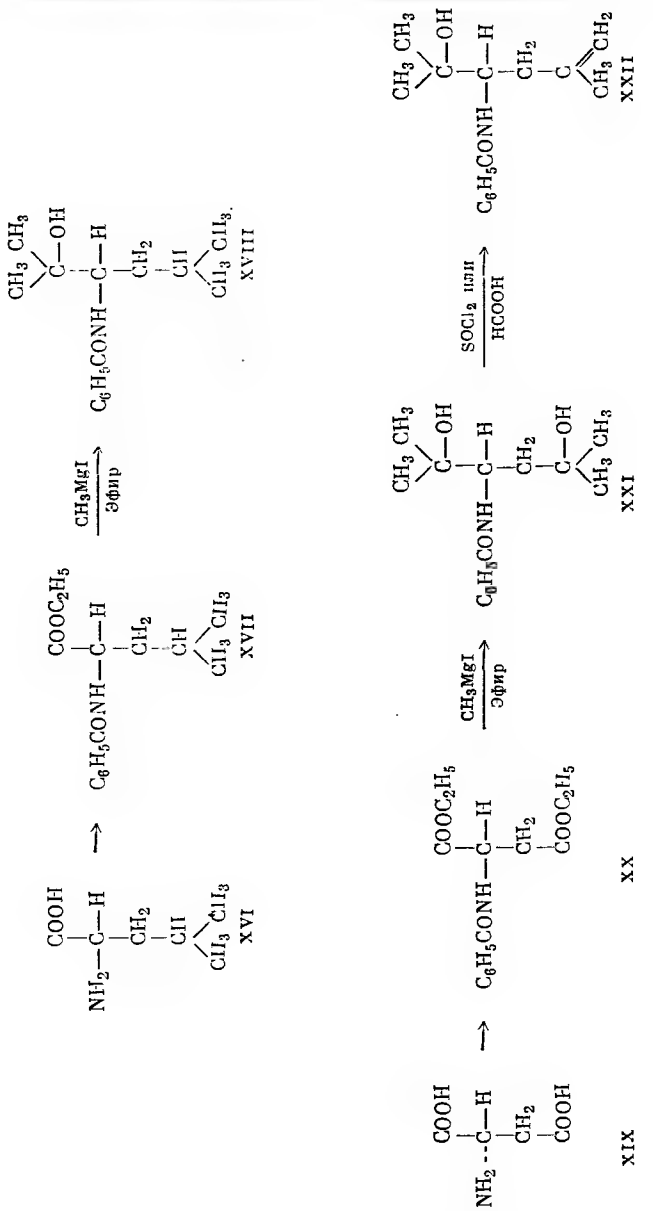
Хотя этот метод позволил приписать L-конфигурацию (—)-лейцину, весьма сомнительно, чтобы он мог быть широко и с достаточной степенью точности использован для установления конфигураций. В этой связи можно указать, что L-норвалин (XXIII) и L-аллилглицин (XXIV) отличаются структурно в той же степени, как и соединения XVIII и XXII, однако L-норвалин имеет значение $[M]_D$ в воде и в 5 н. HCl соответственно +8,2 и +28,2°, а значения $[M]_D$ L-аллилглицина в тех же растворителях соответственно равны —42,7 и —6,6°. Таким образом, несмотря на их конфигурационную эквивалентность и близкое структурное сходство, ни направление, ни величина вращения у этих двух веществ несравнимы.

$CH_3CH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$ — XXIII

$CH_2{=}CHCH_2CH(NH_2)CO_2H$ — XXIV

Влияние N-метилирования. Превращение L-аминокислоты в соответствующую N-метиламинокислоту и далее в N-диметиламинокислоту сопровождается положительным сдвигом оптического вращения в том случае, если измерения проводятся в одном и том же растворителе. Обратное положение справедливо для D-аминокислот.

13. Дисперсия оптического вращения. Дисперсией оптического вращения называется изменение угла вращения оптически активного вещества, возникающее при изменении длины волны поляризованного света. Графически это явление можно изобразить кривой оптического вращения, являющейся функцией длины волны. Поскольку изменения длины волны в процессе измерения оптической активности не сопровождаются какими-либо заметными изменениями физических или химических характеристик оптически активной среды, за исключением изменений угла вращения, дисперсия опти-



ческого вращения является прекрасным способом установления точных количественных зависимостей между оптической активностью и другими явлениями. Этот тип оптического поведения следует четко отличать от таких случаев, когда наблюдается изменение других параметров, например температуры, концентрации и растворителя, которые также можно связать с изменениями свойств среды — физических (плотности, диэлектрической проницаемости, величины рефракции) или химических (ассоциации или диссоциации, образования соединений между растворенным веществом и растворителями, рацемизации).

Основываясь на своих не очень точных измерениях дисперсии оптического вращения кварца, Био [189, 190] в 1817 г. пришел к заключению о существовании обратной квадратичной зависимости между величиной вращения и длиной волны света. Эта зависимость выражается уравнением $\alpha = A/\lambda^2$, где α — угол вращения, λ — длина волны и A — константа. Сам Био затем убедился в том, что это выражение лишь приблизительно верно, поскольку его наблюдения дисперсии оптического вращения винной кислоты не согласовывались достаточно точно с этой формулой. Лишь в 1900 г. Друде [190, 191] вывел весьма сходное, основанное на теоретических предпосылках уравнение, которое точно описывало зависимость между оптическим вращением и длиной волны. Это важное уравнение выглядит следующим образом:

$$[\alpha] = \frac{\Sigma k_n}{\lambda^2 - \lambda_n^2},$$

где $[\alpha]$ — удельное вращение, k — константа, λ — длина волны света и λ_n — величина максимума поглощения оптически активного хромофора. Уравнение Друде не всегда можно применять в пределах полосы поглощения или в близлежащих областях спектра, но оно вполне удовлетворительно отражает оптическое поведение большинства оптически активных соединений в тех областях спектра, где они полностью прозрачны.

Если график зависимости $1/[\alpha]$ от λ^2 в видимой области спектра является прямой линией, уравнения Друде можно упростить до одночлена:

$$[\alpha] = \frac{k}{\lambda^2 - \lambda_0^2} \quad \text{или} \quad \frac{1}{[\alpha]} = \frac{\lambda^2}{k} - \frac{\lambda_0^2}{k},$$

где λ_0 соответствует длине волны, при которой дисперсионная кривая пересекает ось λ^2. В ультрафиолетовой области, когда на оптическое вращение влияют другие оптически активные центры поглощения или когда превалирует эффект Коттона (ср. с работой [190]), обычно наблюдаются некоторые отклонения от линейного характера графика. Соединения, оптическое поведение которых отвечает одночленному уравнению Друде, называют соединениями, обладающими *простой формой дисперсии оптического вращения*. Однако если график не является прямой линией, то с известной степенью точности для его обозначения можно применить один или несколько дополнительных терминов. При этом говорят о *сложной дисперсии*. Обычно точность, достигаемая при большинстве измерений, такая, что не требуется производить расчеты по трех- и четырехчленному уравнению. Поэтому в первом приближении можно допустить, что сложная дисперсия отвечает простому двухчленному уравнению Друде:

$$[\alpha] = \frac{k_1}{\lambda^2 - \lambda_1^2} \pm \frac{k_2}{\lambda^2 - \lambda_2^2}.$$

Если оба члена уравнения имеют одинаковый знак, т. е. являются оба положительными или оба отрицательными, а также если оба члена имеют разные знаки при $k_1 > k_2$ и $\lambda_1 > \lambda_2$ [т. е. $k_1/(\lambda^2 - \lambda_1^2) > k_2/(\lambda^2 - \lambda_2^2)$], то $[\alpha]$

плавно увеличивается или уменьшается с уменьшением длины волны. В этом случае дисперсию называют *нормальной*. Если же оба члена имеют разные знаки при условии, что $k_1 > k_2$, а $\lambda_1 < \lambda_2$, то $[\alpha]$, возрастая сначала до максимума, затем уменьшается, причем значение $[\alpha]$ обязательно проходит через нуль и приобретает противоположный знак. В этом случае говорят об *аномальной* дисперсии. На рис. 3 представлены графики трех указанных

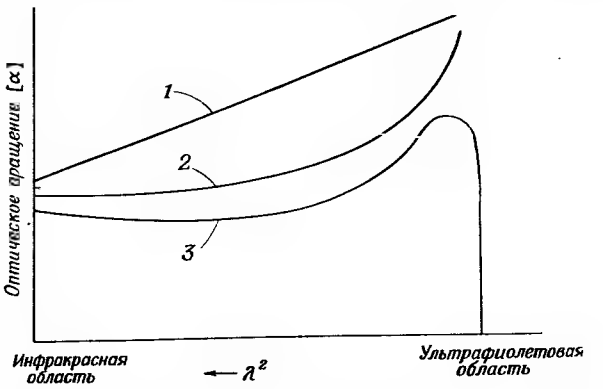


Рис. 3. Различные типы кривых дисперсии оптического вращения.
1 — простая; 2 — сложная; 3 — аномальная.

выше типов дисперсии оптического вращения, а именно *простой*, *нормальной сложной* и *аномальной сложной* дисперсии.

Приведенные выше одно- и двухчленные уравнения Друде содержат соответственно две или четыре константы, выраженные значениями k и λ_0. Поскольку эти константы могут быть использованы для характеристики дисперсии оптически активного вещества, вычисление их из данных по дисперсии оптического вращения имеет важное значение. В этой связи определение двух констант, входящих в одночленное уравнение Друде, не представляет особых трудностей. Приблизительные значения λ_0 и k могут быть получены на основе линейной зависимости, выражаемой графиком отношения $1/[\alpha]$ к λ^2. Однако эта приблизительная оценка обычно проверяется затем с помощью алгебраического анализа данных с целью более точного вычисления этих значений. Удобным алгебраическим методом, используемым с этой целью, является *метод наименьших квадратов*, применение которого для решения обсуждаемой проблемы описано в следующем разделе. К сожалению, отсутствует простой метод графического анализа сложных дисперсионных кривых, отвечающих двучленному уравнению Друде. Пока, как правило, избегают делать алгебраический анализ этих данных из-за его трудности. Поэтому обычно эти данные выражают лишь в форме графиков, без применения точного алгебраического анализа, который мог бы или выяснить их значимость, или подтвердить их точность. Однако следует подчеркнуть, что, несмотря на громоздкий характер расчетов, алгебраический анализ двучленного уравнения Друде достаточно элементарен и его применение целесообразно во всех случаях, когда это необходимо. Обсуждение методов такого анализа дано в работе Лаури и Оуена [192]. Поскольку одночленное уравнение Друде удовлетворительно согласуется с поведением большинства до сих пор изученных оптически активных аминокислот.

более подробное обсуждение методов алгебраического анализа двучленного уравнения для наших целей не требуется.

Метод наименьших квадратов. Вычисление значений k и λ_0, входящих в одночленное уравнение Друде, можно легко выполнить, используя *метод наименьших квадратов.* Этот метод заключается в определении минимального отклонения, которое может иметь арифметическое среднее (m) n цифр $x_1, \cdots, x_n$. Так, при точном определении величины u путем ряда измерений обычно наблюдаются небольшие различия, связанные с индивидуальными ошибками экспериментатора. Поэтому вопрос сводится к тому, чтобы определить, какое из значений u наиболее достоверно. Хотя арифметическое среднее, т. е. $m = (x_1 + \cdots + x_n)/n$, обычно и считается этим наиболее «верным» значением, правомерность его использования в любой серии определений потребовала длительного и достаточно подробного обсуждения в рамках теории вероятностей. В качестве альтернативы можно указать минимальное количество свойств числа m, которые необходимы для того, чтобы его можно было использовать с достаточной степенью достоверности. С этой целью для выражения отклонений отдельных измерений от достоверного значения используют разности $u - x_1, \cdots, u - x_n$ для n измерений. При этом, конечно, предполагается, что значение x, имеющее наименьшее отклонение, независимо от того, положительное это отклонение или отрицательное, лучше всего соответствует величине u. При вычислениях этой величины обычно пользуются квадратами отклонений $(u - x_i)^2$, а не значениями арифметического отклонения в качестве меры погрешности. В качестве оптимального значения принимают наименьшую сумму квадратов отклонений $(u - x_1)^2 + (u - x_2)^2 + \cdots + (u - x_n)^2$. *Именно это оптимальное значение u наиболее точно отвечает арифметическому среднему m.*

Это положение можно доказать следующим образом. Если возвести в квадрат уравнение

$$u - x_i = (m - x_i) + (u - m),$$

то получим

$$(u - x_i)^2 = (m - x_i)^2 + (u - m)^2 + 2(m - x_i)(u - m).$$

Далее суммируем все уравнения, представляя значения $i = 1, 2, \cdots n$. Сумма последних членов уравнения, т. е. $\sum_{i=1}^{n} 2(m - x_i)(u - m)$, будет $2(nm - x_1 - \cdots - x_n)(u - m)$, и по определению m будет равна нулю. Значит $(u - x_1)^2 + \cdots + (u - x_n)^2 = (m - x_1)^2 + \cdots + (m - x_n)^2 + n(m - u)^2$; отсюда следует, что

$$(u - x_1)^2 + \cdots + (u - x_n)^2 \geqslant (m - x_1)^2 + \cdots + n(m - u)^2.$$

Это выражение обращается в равенство лишь при $u = m$, что и приводит нас к высказанному выше утверждению.

Прямое использование метода наименьших квадратов дает арифметическое среднее, выраженное через оптимальное значение u. Поэтому

$$s = \sum_{i=1}^{n} (u - x_1)^2,$$

и поскольку s должно быть минимальным, а наблюдаемые значения x_i постоянными, то

$$\frac{ds}{du} = -2\sum_{i=1}^{n} (u - x_i) = 0, \quad \text{или} \quad \sum_{i=1}^{n} (u - x_i) = 0;$$

отсюда

$$nu = \sum_{i=1}^{n} x_i$$

и

$$u = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} x_i = m.$$

Как видно, *метод наименьших квадратов* позволяет отобрать правдоподобные значения из ряда не очень сильно различающихся между собой определений. Это касается, в частности, тех случаев, когда экспериментально определенные координаты n точек (x_i, y_i) теоретической прямой, полученной, например, по одночленному уравнению Друде, не ложатся на эту прямую достаточно точно. В этом случае можно использовать следующий метод: пусть

$$y = ax + b$$

будет уравнением этой прямой. Решение его заключается в отыскании коэффициентов a и b. Расстояние от прямой до точки с координатами $x_i y_i$ в направлении, параллельном оси y, будет

$$v_i = ax_i + b - y_i,$$

где v_1 соответствует отклонению точки от прямой. Положительный или отрицательный знак этого отклонения соответствует положению точки выше или ниже прямой. Поскольку квадрат вышеприведенного уравнения равен

$$v_i^2 = (ax_i + b - y_i)^2,$$

то проблема сводится к отысканию значений a и b, при которых $\sum_{i=1}^{n} v_i^2$ минимальна. Поэтому

$$s = \sum_{i=1}^{n} v_i^2 = \sum_{i=1}^{n} (ax_i + b - y_i)^2 =$$

$$= a^2\Sigma x_i^2 + 2ab\Sigma x_i - 2a\Sigma x_i y_i + nb^2 - 2b\Sigma y_i + \Sigma y_i^2.$$

Дифференцируя это уравнение сначала по a и затем по b, получим

$$\frac{\partial s}{\partial a} = 0 = 2a\Sigma x_i^2 + 2b\Sigma x_i - 2\Sigma x_i y_i$$

и

$$\frac{\partial s}{\partial b} = 0 = 2a\Sigma x_i + 2nb - 2\Sigma y_i.$$

Решив каждое из этих уравнений относительно b и приравнивая их, получим

$$\frac{\Sigma x_i y_i - a\Sigma x_i^2}{\Sigma x_i} = \frac{\Sigma y_i - a\Sigma x_i}{n}.$$

Решая последнее равенство относительно a, будем иметь

$$a = \frac{n\Sigma x_i y_i - \Sigma x_i \Sigma y_i}{n\Sigma x_i^2 - (\Sigma x_i)^2},$$

где a выражает наклон прямой.

С другой стороны b можно найти из

$$nb = \Sigma y_i - a\Sigma x_i.$$

Таким образом, для определения a и b необходимо знать значения

$$\sum_{i=1}^{n} x_i,\ \sum_{i=1}^{n} y_i,\ \sum_{i=1}^{n} x_i^2 \text{ и } \sum_{i=1}^{n} x_i y_i.$$

Пример расчета. Само собой разумеется, что значения λ_0 и k данного оптически активного вещества, как это видно из одночленного уравнения Друде $1/[\alpha] = \lambda^2/k + \lambda_0^2/k$, можно определить или приблизительно — графическим методом, или более точно — методом алгебраического анализа. При этом уравнение Друде имеет линейную форму

$$y = ax + b,$$

где

$$y = 1/[\alpha],\ a = 1/k,\ x = \lambda^2 \text{ и } b = \lambda_0^2/k.$$

Поэтому график $1/[\alpha]$ относительно λ^2 должен быть прямой линией, экстраполяцией которой на ось x можно получить значение λ_0^2. Соответствующее

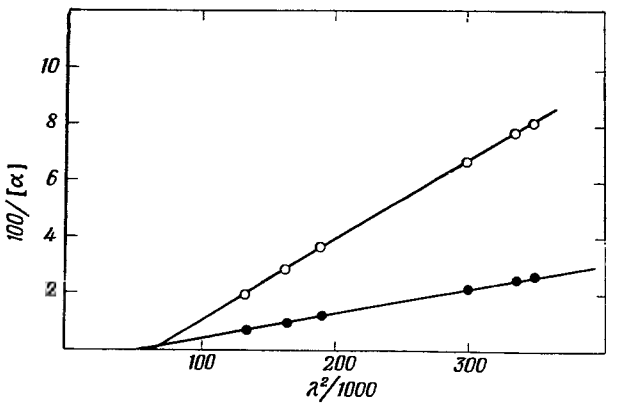


Рис. 4. Кривые дисперсии оптического вращения L-изолейцина в воде и в 6 н. HCl [198].

○ дисперсия вращения L-изолейцина в H_2O; ● дисперсия вращения L-изолейцина в 6 н. HCl.

значение k выражается обратной величиной наклона, т. е. $k = 1/a$. Иллюстрацией этого метода является линейный график значений $100/[\alpha]$ относительно $\lambda^2/1000$ для дисперсии оптического вращения L-изолейцина (рис. 4), согласно которому значения λ_0 равны 255 и 233 *ммк* соответственно в воде и в 5 н. HCl. Хотя приблизительные значения λ_0 и k можно получить графическим методом, обычно предпочитают иметь более точные значения с помощью какого-либо подходящего алгебраического метода, например приведенного выше метода наименьших квадратов. Вычисление легко выполнить, если принять в этих уравнениях $x = \lambda^2/1000$ и $y = 100/\alpha$. Соответствующие данные и вычисления для L-изолейцина как в водном растворе, так и в растворе HCl приведены в табл. 25. Значения λ_0 получаются соответственно 248 и 231 *ммк*.

Определение конфигурации моноасимметрических α-аминокислот. Несмотря на то что определение дисперсии оптического вращения в видимой области спектра было ранее описано для аспарагиновой [193] и глутаминовой [193] кислот и тирозина [194], лишь в 1943 г. Паттерсон и Броде пока-

Таблица 25

Вычисления значений λ_0 L-изолейцина в воде и 5 н. HCl методом наименьших квадратов

L-Изолейцин в воде							L-Изолейцин в 5н. HCl					
[α], градусы	ммк	x	y	xy	x²		[α], градусы	ммк	x	y	xy	x²
+49,2	365	133,2	2,03	270,4	17,742		+144,0	365	133,2	0,69	91,91	17,742
+34,5	405	164,0	2,90	475,6	26,896		+105,0	405	164,0	0,95	155,80	26,896
+27,9	435	189,2	3,58	677,3	35,797		+84,9	435	189,2	1,18	223,26	35,797
+15,0	546	298,1	6,67	1988,3	88,864		+47,2	546	298,1	2,12	631,97	88,864
+13,0	578	334,1	7,69	2569,2	111,623		+41,3	578	334,1	2,42	808,52	111,623
+12,4	589	346,9	8,06	2796,0	120,340		+39,3	589	346,9	2,54	881,13	120,340
	Сумма =	1465,5	30,93	8776,8	401,262			Сумма =	1465,5	9,90	2792,59	401,262

$$a = \frac{n\Sigma x_i y_i - \Sigma x_i \Sigma y_i}{n\Sigma x_i^2 - (\Sigma x_i)^2} = \frac{6 \cdot 8776{,}8 - 30{,}93 \cdot 1465{,}5}{6 \cdot 401{,}262 - (1465{,}5)^2} = 0{,}0282,$$

$$b = \frac{30{,}93 - 0{,}0282 \cdot 1465{,}5}{6} = -1{,}73.$$

Поскольку $y = ax + b$, то $0 = ax + b$, когда линия пересекает ось x.

Подставляя, получим $0 = 0{,}0282$ $(\lambda_0^2/1000) - 1{,}73$,
$\lambda_0^2 = (1{,}73 \cdot 1000)/0{,}0282 = 61300$,
$\lambda_0 = 248$.

и

$$b = \frac{\Sigma y_i - a\Sigma x_i}{n},$$

где $x = \lambda^2/1000$ и $y = 100/[\alpha]$.

$$a = \frac{6 \cdot 2792{,}59 - 9{,}90 \cdot 1465{,}5}{6 \cdot 401{,}262 - (1465{,}5)^2} = 0{,}00865,$$

$$b = \frac{9{,}90 - 0{,}00865 \cdot 1465{,}5}{6} = -0{,}463.$$

Поскольку $y = ax + b$, то $0 = ax + b$, когда линия пересекает ось x.

Подставляя, получим $0 = 0{,}00865$ $(\lambda_0^2/1000) - 0{,}463$,
$\lambda_0^2 = (0{,}463 \cdot 1000)/0{,}00865 = 53\,500$,
$\lambda_0 = 231$,

Таблица 26

Дисперсия оптического вращения α-аминокислот[а] [195]

Аминокислота	Концентрация, %	Добавка кислоты или основания	Удельное вращение, градусы при длине волны, *мμ* 440	460	480	500	540	580	589	620	660	λ_0, *мμ*[б]
L-Аланин	4,0	0	+8,40	+6,02	+4,66	+3,74	+2,71	+2,04	+1,96	+1,61	+1,36	383
	1,7	1 экв. HCl	+36,5	+30,5	+22,9	+19,1	+14,3	+11,4	+10,2	+8,57	+6,35	373
	2,8	1 экв. NaOH	—	+6,23	+5,66	+4,72	+3,78	+3,21	+2,93	+2,64	+2,27	283
	0,4	2 экв. HCl	+39,3	+34,6	+27,5	+23,3	+18,3	+15,1	+14,3	+12,1	+10,3	332
	2,7	2 экв. NaOH	+16,8	+12,3	+9,90	+7,92	+6,34	+4,95	+4,65	+3,96	+3,17	362
L-Аргинин·HCl[в]	2,1	0	+27,4	+23,6	+20,4	+19,0	+15,1	+12,4	+12,1	+10,6	+9,15	265
	2,1	1 экв. HCl	—	+25,4	+22,8	+20,8	+16,4	+13,6	+13,1	+11,3	+9,84	270
	2,1	1 экв. NaOH	—	+21,7	+20,0	+18,8	+14,2	+11,9	+11,5	+10,2	+8,70	249
	2,0	2 экв. HCl	+46,2	+41,9	+36,6	+33,3	+27,3	+22,6	+22,0	+19,2	+16,8	249
L-Аспарагиновая кислота	0,8	0	—	—	—	+6,65	+5,70	+4,76	+4,60	+4,12	+3,46	241
	1,9	1 экв. HCl	—	+36,0	+32,8	+28,9	+23,9	+20,5	+19,7	+17,8	+15,3	241
	1,6	1 экв. NaOH	−30,5	−29,3	−26,5	−25,2	−22,4	−20,3	−20,0	−18,1	−16,2	Мним.
	1,6	2 экв. NaOH	—	—	—	−5,31	−4,68	−4,21	−4,06	−3,90	−3,58	»
L-Цистин	0,45	2 экв. NaOH	—	−166	−144	−131	−113	−95,2	−92,0	−82,0	−72,0	161
	0,49	4 экв. HCl	−443	−418	−377	−344	−290	−248	−242	−214	−191	195
L-Глутаминовая кислота	2,0	0	—	+21,7	+18,7	+16,9	+14,4	+12,4	+12,1	+10,7	+9,20	232
	2,0	1 экв. HCl	+53,8	+51,5	+45,7	+41,9	+33,9	+28,6	+27,9	+24,9	+21,4	232
	2,0	1 экв. NaOH	—	−9,25	—	−8,50	−7,75	−7,00	−6,95	−6,50	−6,00	Мним.
	2,0	2 экв. NaOH	—	+22,0	+18,2	+16,0	+12,2	+9,74	+9,32	+7,91	+6,74	340
L-Гистидин·HCl·H_2O[в]	3,3	0	−70,8	−64,4	−62,7	−56,0	−47,6	−41,4	−39,6	−36,1	−33,0	Мним.
	3,5	1 экв. HCl	+8,75	+6,42	+4,85	+3,31	+1,95	+0,97	+0,80	+0,58	+0,20	Аном.
	3,8	1 экв. NaOH	—	−16,4	−15,1	−14,2	−12,2	−10,7	−10,3	−9,3	−8,25	Мним.
L-Лейцин	1,3	0	−15,1	−14,3	−13,9	−13,5	−12,9	−11,8	−11,5	−10,8	−10,0	Мним.
	3,3	1 экв. HCl	+24,5	+21,8	+18,1	+16,3	+13,0	+10,6	+10,3	+9,06	+7,56	283
	3,2	1 экв. NaOH	+21,1	+17,5	+14,7	+12,5	+10,0	+7,80	+7,52	+6,40	+5,46	334
L-Лизин·HCl[в]	2,0	0	—	—	+22,1	+19,9	+15,9	+13,1	+12,8	+11,2	+9,65	277
	2,0	1 экв. HCl	—	—	+21,5	+19,0	+15,5	+12,7	+12,3	+10,9	+9,32	277
	2,0	1 экв. NaOH	—	—	+20,9	+18,7	+15,0	+11,9	+11,7	+10,3	+8,75	277
	2,0	2 экв. HCl	—	—	+38,6	+35,7	+26,9	+22,6	+22,0	+19,1	+16,3	283
L-Метионин	3,0	0	—	−10,1	−9,60	−9,26	−8,44	−7,77	−7,60	−7,12	−6,62	Мним.
	3,4	1 экв. HCl	—	+35,7	+31,9	+28,6	+23,8	+19,7	+19,3	+17,0	+14,9	247
	3,2	1 экв. NaOH	+9,9	+7,4	+5,35	+4,40	+3,13	+2,36	+2,25	+1,89	+1,57	387
L-Фенилаланин	1,3	0	−53,0	−50,8	−49,2	−45,6	−39,3	−33,8	−33,4	−29,5	−26,5	0
	3,2	1 экв. HCl	—	−15,0	−14,4	−13,9	−13,0	−11,8	−11,6	−11,0	−10,0	Мним.
	3,4	1 экв. NaOH	—	+3,66	+2,19	+1,17	−0,22	−1,17	−1,17	−1,90	−2,34	Аном.
L-Пролин	1,6	0	−164	−147	−133	−123	−103	−88,7	−86,8	−77,5	−68,5	126
	1,7	1 экв. HCl	−105	−101	−95,2	−82,6	−69,6	−60,0	−58,0	−51,8	−47,3	170
	1,8	1 экв. NaOH	−195	−177	−156	−143	−121	−103	−99,1	−88,2	−76,2	200
L-Триптофан	0,9	0	−56,3	−49,8	−47,2	−44,0	−40,2	−35,8	−34,5	−31,6	−28,9	Мним.
	3,1	1 экв. HCl	+8,76	+4,78	+2,38	+0,80	−0,48	−1,75	−1,75	−2,71	−3,50	Аном.
	3,7	1 экв. NaOH	—	+16,9	+10,2	+7,44	+4,34	+3,11	+2,90	+2,30	+1,90	427
L-Тирозин	1,9	2 экв. HCl	—	—	−16,5	−15,7	−14,2	−12,9	−12,6	−11,8	−10,8	Мним.
	3,8	2 экв. NaOH	—	—	−20,7	−19,0	−16,8	−14,7	−14,4	−13,1	−11,6	»
D-Валин	3,6	0	−12,7	−10,6	−9,93	−8,38	−7,26	−5,60	−5,56	−4,89	−4,33	245
	3,2	1 экв. HCl	−49,5	−43,0	−37,7	−34,7	−28,2	−24,0	−23,6	−21,3	−17,7	232
	3,6	1 экв. NaOH	−30,4	−27,8	−24,3	−22,8	−19,0	−16,2	−15,7	−14,1	−12,5	207

[а] Область температур 22—31°.

[б] Если λ_0^2 отрицательная величина, а λ_0 мнимая, то это обозначено «Мним.». Если знак вращения меняется с изменением длины волны, то это обозначено «Аном.» (аномальная дисперсия).

[в] Вычислено, исходя из значений для свободного основания.

11 Заказ № 576

Таблица 27

Данные дисперсии оптического вращения L-аминокислот [198]

L-Аминокислота	Удельное вращение в воде, градусы при длине волны, *ммк*						λ_0[в], *ммк*	Удельное вращение в HCl[б], градусы при длине волны, *ммк*						λ_0[в], *ммк*
	365	405	435	546	578	589		365	405	435	546	578	589	
Аланин	+11,8	+7,22	+5,27	+2,35	+1,98	+1,84	348	+58,3	+40,3	+31,4	+16,7	+14,2	+14,1	258
β-Аминоаланин	—	—	—	—	—	—	—	+110,0	+82,5	+50,3	+39,4	+35,0	+33,1	199
α-Аминоадипиновая кислота	+19,4	+12,9	+10,1	+3,6	+3,2	+3,2	—	+89,1	—	+52,0	+28,8	+25,1	+24,1	233
γ-Аминобутирин	—	—	—	—	—	—	—	+109,0	+81,2	+65,2	+36,9	+32,5	+31,7	223
α-Амино-*н*-каприловая кислота	+28,7	—	+16,5	+10,4	—	+9,1	—	+88,2	—	+50,7	+27,6	+24,2	+23,5	237
α-Амино-*н*-гептиловая кислота	+25,6	—	+14,9	+8,0	—	+6,7	242	+90,9	+65,3	+52,0	+28,2	+24,5	+23,3	247
Аргинин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+58,2	+32,5	+28,6	+26,9	203
Аспарагиновая кислота	+21,7	—	+11,8	+6,1	—	+5,2	257	—	—	+52,0	+29,5	+25,8	+24,9	214
S-Бензилцистеин	—	—	—	—	—	—	—	+6,3	−0,5	−2,8	−4,3	−4,0	−4,0	Аном.
S-Бензилгомоцистеин	—	—	—	—	—	—	—	+88,9	+65,5	+53,2	+29,8	+26,0	+24,8	226
Бутирин	+38,0	+25,1	+19,7	+9,6	+8,4	+7,9	282	+85,0	+58,9	+46,6	+24,4	+20,9	+20,1	261
Цистин	—	—	—	—	—	—	—	−665,0	−506,0	−418,0	−244,0	—	−212,0	198
Этионин	−13,0	−11,9	−11,1	−7,7	−7,0	−6,8	Мним.	+88,5	—	+51,7	+28,5	—	−23,4	240
Глутаминовая кислота	+44,9	+32,0	+25,9	+14,1	+12,0	+11,9	241	+114,0	+83,3	+67,9	+38,0	+33,3	+31,5	228
Гистидин	−113,0	−89,1	−75,1	−45,2	−39,9	−39,2	151	+65,1	+44,0	+33,8	+17,0	+14,6	+13,8	270
Гомоцистин	—	—	—	—	—	—	—	+272,0	+201,0	+164,0	+92,1	+80,7	+77,1	221
Гомосерин	−15,9	−15,8	−14,4	−10,1	−9,2	−8,8	Мним.	—	—	—	—	—	—	—
ε-Оксинорлейцин	+20,4	—	+9,9	+4,6	+4,2	+3,6	296	+90,1	+65,4	+52,1	+28,5	+25,0	+23,5	244
δ-Оксинорвалин	+29,4	+20,8	+15,4	+8,1	+6,7	+6,2	Мним.	—	—	—	—	—	—	—
Изовалин	+38,6	+28,6	+23,4	+13,2	+11,5	+11,2	218	—	+16,6	+13,9	+8,0	+7,1	+6,6	204
Лейцин	−22,7	—	−18,5	−12,6	—	−10,7	Мним.	+71,3	+48,3	+37,5	+19,1	+16,6	+15,6	274
трет-Лейцин	−24,5	−20,7	−17,9	−11,1	−9,7	−9,1	»	—	—	+20,2	+9,2	—	+7,4	314
Лизин	—	—	—	—	—	—	—	+95,6	+69,2	+56,5	+31,3	+27,1	+25,9	231
Метионин	−16,1	−14,8	−13,7	−9,5	−8,6	−8,4	Мним.	+90,8	+64,7	+52,3	+28,8	+25,1	+23,9	236
Норлейцин	+27,6	+18,3	+13,3	+6,0	+5,3	+4,7	307	+95,3	+68,0	+52,3	+28,8	+25,6	+24,2	244
Норвалин	+36,0	+24,1	+18,1	+8,8	+7,3	+7,0	293	+96,5	+68,7	+54,2	+29,0	+25,4	+24,1	251
Орнитин	—	—	—	—	—	—	—	+100,0	+72,4	+59,2	+33,2	+29,0	+27,7	226
Фенилаланин	−98,6	−78,3	−66,4	−40,1	−35,6	−34,0	146	+9,4	+0,7	+4,2	−6,3	−5,9	−5,9	Аном.
Пролин	−265,0	−205,0	−171,0	−101,0	−88,7	−85,1	105	−157,0	−125,0	−105,0	−63,5	−56,0	−54,1	151
Серин	−9,9	−11,5	−11,5	−8,8	−7,8	−7,8	Мним.	+64,4	+44,0	+34,2	+17,5	+15,2	+14,5	271
Триптофан	−68,6	—	−58,1	−38,3	—	−33,3	Мним.	+74,6	+40,2	+27,0	+9,7	+6,7	+6,4	Мним.
Валин	+31,4	+19,6	+15,1	+6,8	+6,2	+5,6	298	+107,0	—	+60,3	+32,2	+27,8	+26,5	253
Оксипролин	−245,0	−188,0	−156,0	−90,7	−79,9	−76,7	192	−138,0	−109,0	−92,0	−55,3	−47,3	−46,7	167
алло-Оксипролин	−184,0	−144,0	−120,0	−71,0	−62,5	−60,0	181	−55,8	−45,9	−39,0	−24,2	−21,6	−20,6	106
Изолейцин	+49,2	+34,5	+27,9	+15,0	+13,0	+12,4	248	+144,0	+105,0	+84,9	+47,2	+41,3	+39,3	231
алло-Изолейцин	+70,0	+48,5	+38,1	+19,6	+16,8	+15,9	270	+154,0	+110,0	+87,8	+47,3	+40,9	+39,6	246
трео-β-Фенилсерин	−86,6	−71,9	−61,9	−38,6	−34,5	−33,1	68	−137,0	−111,0	−95,4	−58,6	−51,8	−50,3	112
эритро-β-Фенилсерин	—	+27,6	+22,0	+10,5	+8,9	+8,4	294	+312,0	+223,0	+180,0	+98,8	+85,9	+82,2	237
Треонин	−80,9	−62,8	−54,8	−33,6	−29,6	−28,5	126	−23,4	−24,3	−22,6	−16,7	−15,2	−14,5	Мним.
алло-Треонин	+51,5	+34,2	+25,5	+11,9	+10,1	+9,6	299	+123,0	+88,8	+70,2	+38,5	+32,9	+31,7	246

[а] Оптическое вращение определяли с помощью фотоэлектрического поляриметра. Концен
[б] 5 н. HCl, за исключением случаев цистеина, гомоцистеина, S-бензилцистеина, S-бензил
[в] Если λ_0^2 отрицательная величина, а λ_0 мнимая, то это обозначено «Мним.»
Если знак вращения меняется с изменением длины, то это обозначено «Аном.» (аномаль

трация 0,5—2,0%. Температура 24—28°.
гомоцистеина и триптофана, когда использовались 1 н. растворы.

ная дисперсия).

зали, что данные, полученные при таких определениях, могут быть использованы для точного определения конфигурации α-аминокислоты. Результаты, полученные этими исследователями (см. табл. 26), охватывают данные по дисперсии четырнадцати различных аминокислот в воде, щелочной и кислой средах в области длин волн от 440 до 660 *ммк*. Во всех изученных случаях дисперсия оказалась нормальной, причем приблизительные значения λ_0 были найдены графическим методом с помощью одночленного уравнения Друде. На основании типа дисперсии, знака вращения и значения λ_0 можно сделать вывод, что α-аминокислоты имеют L_s-конфигурацию, если эти данные удовлетворяют одному из следующих условий: а) *дисперсия нормальная и положительная при значении λ_0 выше 205 ммк*; б) *дисперсия нормальная и отрицательная при значении λ_0 ниже 140 ммк*; в) *дисперсия аномальная, и знак вращения изменяется с отрицательного на положительный с уменьшением длины волны*. Лимитирующие значения 205 и 140 *ммк*, налагаемые этими условиями, были выведены из имеющихся данных по дисперсии оптического вращения карбоновых кислот [196] и аминов [197], у которых анизотропные полосы поглощения карбоксильных и аминогрупп частично совпадают и перекрывают область спектра между 140 и 205 *ммк*. То обстоятельство, что хлоргидраты и натриевые соли цистина и пролина не удовлетворяют указанным критериям (табл. 26), объясняется структурными особенностями, свойственными этим соединениям; пролин является единственной из изученных аминокислот, в которых аминогруппа включена в цикл, а цистин имеет два асимметрических центра. Последующие изменения лимитирующих значений λ_0 (см. ниже) позволили распространить применение эмпирического *правила Паттерсона — Броде* не только на эти аминокислоты, но также и на большинство других α-аминокислот, для которых становятся доступными данные дисперсии оптического вращения [198].

Бранд и сотрудники [199] применили правило Паттерсона — Броде к L-формам аланина, глутаминовой кислоты, лизина, орнитина и тирозина в области 250—750 *ммк*. Алгебраический анализ результатов с помощью двучленного уравнения Друде показал, что во всех случаях первый член уравнения положителен и значения λ_0 лежат в области 220—290 *ммк*, что согласуется с этим правилом.

В последующем сообщении [198] были приведены значения дисперсии оптического вращения около сорока L-аминокислот в области 365—589 *ммк*. Отчасти они показывают, что правило Паттерсона — Броде применимо для большего числа различных до сих пор изученных аминокислот, отчасти же они могут служить основой сравнения при анализе поведения более сложных диасимметрических аминокислот. В большинстве случаев применение одночленного уравнения Друде достаточно для обработки полученных данных. Значения λ_0, вычисленные по методу наименьших квадратов, а также значения $[\alpha]$ при 589, 578, 546, 435, 405 и 365 *ммк* даны в табл. 27. Почти для всех изученных соединений, за исключением тех, которые проявляют аномальную дисперсию, график отношения $100/\alpha$ к λ^2 имеет вид прямой, причем отклонения значений λ_0, найденных графически от вычисленных алгебраическим методом, обычно не превышают 5%. Приведенные данные показывают, что почти все правовращающие соединения с нормальной дисперсией имеют значения λ_0 199 *ммк* или более, тогда как мнимые значения λ_0 (за счет отрицательных значений λ_0^2) или значения λ_0 198 *ммк* и меньше типичны для аминокислот, обладающих левым вращением и нормальной дисперсией. Мнимые значения наблюдаются также в случае положительно вращающего δ-оксинорвалина (в воде) и триптофана (в 1 н. HCl). Во всяком случае, приведенное выше правило Паттерсона — Броде может быть использовано как метод выяснения оптической конфигурации α-аминокислот, *если принять значение λ_0, равное 199 ммк, как граничное значение между положительно вращающими L-аминокислотами с $\lambda_0 > 199$ и отрицательно вращающими L-аминокислотами с $\lambda_0 < 199$*; D-*энантиомеры должны, следовательно, обладать теми же значениями λ_0, но противоположными знаками вращения. Это положение называют модифицированным правилом Паттерсона — Броде.*

Определение конфигурации диасимметрических α-аминокислот. Анализ данных, приведенных в табл. 27 для L-изомеров оксипролина, изолейцина, фенилсерина и треонина а также для их L-*алло*-стереомеров, показывает, что все перечисленные соединения подчиняются *модифицированному правилу Паттерсона — Броде* для оптического поведения L-аминокислот. Однако сказанное не значит, что все α-аминокислоты содержащие более одного асимметрического центра, также должны подчиняться этому правилу. Имея это в виду, следует отметить, что определение стереохимических конфигураций с помощью дисперсии оптического вращения в большинстве случаев связано с предположением, что полная вращательная способность молекулы равна сумме парциальных вращений групп, связанных с асимметрическим центром (*принцип оптической суперпозиции*), и что знак парциального вращения данной группы одинаков у конфигурационно сходных соединений данного гомологического ряда. Левен и Ротен [190] использовали это положение для выяснения конфигурации соединений, иных, чем аминокислот. В случае аминокислот для определения конфигураций основное значение имеют знаки вращения, вносимые α-амино- и α-карбоксильными группами в полное вращение [195, 198]. Поэтому в тех случаях, когда α-аминокислота имеет более одного центра асимметрии, применение модифицированного *правила Паттерсона — Броде* может быть основано лишь на парциальных вращениях асимметрических α-атомов углерода.

Таблица 28

Дисперсия оптического вращения α-асимметрических центров диасимметрических аминокислот [а] [198]

L-Аминокислота	Парциальное удельное вращение, градусы при длине волны, *ммк*						
	365	405	435	546	578	589	λ_0 [б]
	В воде						
Оксипролин [в]	—215	—166	—138	—80,9	—71,2	—68,4	189
Изолейцин [в]	+59,6	+41,5	+33,0	+17,3	+14,9	+14,2	263
Фенилсерин [в]	—	—22,2	—20,0	—14,1	—12,8	—12,4	Мним.
Треонин [в]	—14,7	—14,3	—14,7	—10,9	—9,8	—9,5	»
	В 5 н. HCl						
Оксипролин [в]	—96,9	—77,5	—65,5	—39,8	—35,0	—33,7	150
Изолейцин [в]	+149,0	+107,5	+86,4	+47,3	+41,1	+39,5	243
Фенилсерин [в]	+87,5	+56,0	+42,3	+20,1	+17,1	+16,0	297
Треонин [в]	+49,8	+32,3	+23,8	+10,9	+8,9	+8,6	307

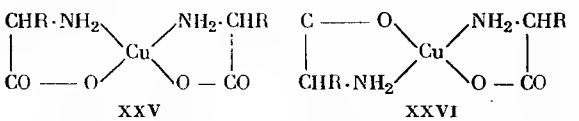
[а] Парциальное вращение α-асимметрических центров вычислено по формуле $\alpha = {}^1/_2\,[\alpha]_{L\text{-формы}} + {}^1/_2\,[\alpha]_{L\text{-алло-формы}}$.

[б] «Мним». обозначает, что λ_0^2 отрицательная величина, а λ_0 — мнимая.

[в] Те же значения имеют L-*алло*-формы.

Основываясь на этих фактах, из экспериментальных значений, полученных для каждой длины волны, *методом парциальных сдвигов вращения* удалось вычислить парциальные вращения α-асимметрических центров L-форм оксипролина, изолейцина, фенилсерина и треонина. Значения λ_0 были найдены методом наименьших квадратов с использованием уравнений Друде [198]. Эти данные приведены в табл. 28. Как правило, все эти значения могут быть получены с помощью одночленного уравнения Друде. Однако имеется одно исключение — вращение α-атома углерода изолейцина в растворе HCl лучше описывается двучленным уравнением $\alpha = -1{,}992/(\lambda^2 - 0{,}04654) + 1{,}676/\lambda^2$. Парциальное вращение β-атома углерода изолейцина в соляной кислоте, при трех наиболее высоких значениях длин волн, имеет столь малую величину, что точно вычислить λ_0 невозможно. Поэтому используются лишь значения, полученные для трех более низких значений длин волн. *Рассмотрение данных табл. 28 показывает, что модифицированное правило Паттерсона — Броде применимо для определения конфигурации α-асимметрического центра диасимметрических аминокислот, причем для изученных соединений L-ряда значения λ_0 положительно вращающих α-центров больше 199 ммк, а для отрицательно вращающих центров эти значения меньше, чем 199 ммк.*

14. Дисперсия комплексных солей меди. Обработка водного раствора аминокислоты соответствующими солями меди, например карбонатом или ацетатом, приводит к образованию медных комплексов аминокислот. Эти комплексы образуются за счет хелатных связей одного атома меди с двумя молекулами аминокислоты, причем получается циклическая система, которая теоретически может быть или плоской, или тетраэдрической. Если преобладает плоская структура, то могут существовать как *цис*- (XXV), так и *транс*-изомерные (XXVI) комплексы. Действительно, такого типа копланарные комплексы платины и палладия с глицином удалось разделить и изомеры выделить в чистом виде [200]. Однако если возникающий циклический комплекс имеет тетраэдрический характер, то он должен содержать асимметрическую бициклическую систему, и поэтому аналогично спиранам его можно



XXV XXVI

разделить на антиподы. Поскольку до сих пор не удалось выделить изомеры этого типа, следует допустить, что оптическая активность, проявляемая такими медными комплексами, целиком связана с асимметрическими атомами углерода аминокислот.

Конфигурация моноасимметрических α-аминокислот. По-видимому, одним из наиболее надежных и легких оптических методов выяснения конфигурации α-аминокислот является определение формы кривой дисперсии оптического вращения соответствующих комплексных медных солей. Его возникновение связано с наблюдением Лифшица [201], что медная соль L-аланина проявляет аномальную дисперсию и имеет интенсивное поглощение в видимой области спектра, т. е. обладает *эффектом Коттона или циркулярным дихроизмом* (ср. с работой [190]). Однако лишь двенадцать лет спустя в 1937 г. Пфейфферу и Христлейту [202] удалось показать, что существует явная зависимость между видом дисперсионной кривой и стереохимической конфигурацией аминокислоты, образующей медный комплекс. В этом, по-видимому, единственном сообщении обработкой водных растворов свобод-

Таблица 29

Молекулярное вращение медных солей некоторых аминокислот при различных длинах волн [202]

Аминокислоты, образующие медный комплекс	Молекулярное вращение, градусы [а] при длинах волн, ммк										
	477	493	512	522	533	558	589	607	627	654	689
L-Аланин	+75	+90	+135	+155	+120	+65	—35	—	—180	—265	—
β-Этиловый эфир L-аспарагиновой кислоты	+20	+64	+100	+125	+95	—50	—180	—	—260	—335	—375
L-Изолейцин	+290	+380	+520	+550	+510	+270	—70	—	—585	—	—860
L-Лейцин	—145	+90	+215	—	+435	+290	+145	—	—235	—	—740
L-Фенилаланин	+365	+415	+470	+535	+435	+310	+15	—	—605	—	—1090
L-Пролин [б]	—440	—405	—495	—	—625	—820	—875	—	—575	—380	—80
D-Серин	—80	—180	—200	—220	—205	—175	—35	—	+170	+285	+425
L-Тирозин	+590	+730	+930	+970	+930	+660	+130	—220	—640	—	—1280
D-Валин	—350	—440	—490	—495	—400	—270	+20	—	+420	+620	+710
L-Валин	+280	+420	+480	+520	+500	+310	—40	—	—460	—	—690

[а] В воде при 18 — 22°.

[б] Для этого соединения приведены также значения —470° при 463,5 ммк, —395° при 484,5 ммк и —900° при 572,5 ммк.

ных аминокислот карбонатом меди и последующим выпариванием раствора были получены медные соли L-аланина, β-этилового эфира L-аспарагиновой кислоты, L-изолейцина, L-лейцина, L-фенилаланина, L-пролина, D-серина, L-тирозина, а также D- и L-валина. Было отмечено, что эти соединения

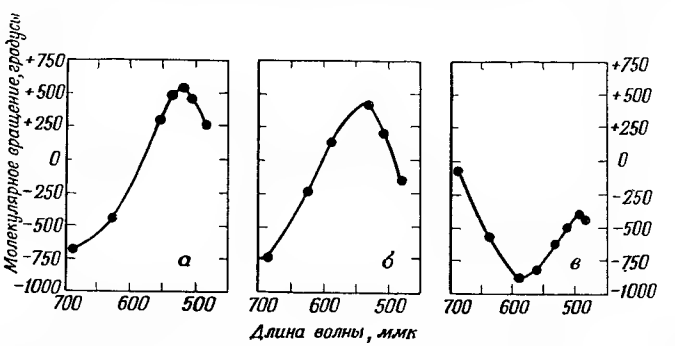


Рис. 5. Кривые дисперсии оптического вращения медных комплексов L-валина, L-лейцина и L-пролина [202].

а — L-валин; *б* — L-лейцин; *в* — L-пролин.

имеют в водных растворах характерное интенсивное поглощение и высокое значение молекулярного вращения (см. табл. 29).

Изучение данных табл. 29 показывает, что комплексные соли меди, принадлежащие к одному конфигурационному типу, весьма сходны по своей вра

щательной способности, что проявляется не только в общем виде дисперсионных кривых, но также и порядка длин волн, при которых наблюдается максимальное вращение. *Так, при переходе от низких к высоким значениям длин волн вращение водных растворов медных комплексов L-аминокислот становится все более положительным и достигает максимума в видимой области спектра, а затем ближе к области высоких значений длин волн уменьшается. Дисперсионные кривые D-изомеров имеют точно противоположный характер.* Эта общая закономерность, известная под названием *правила Пфейффера — Христлейта*, была позднее распространена на медные комплексы L-аспарагиновой кислоты, L-аспарагина, L-глутаминовой кислоты и L-глутамина [203]. Типичные дисперсионные кривые комплексных солей L-лейцина и L-валина представлены на рис. 5. Можно видеть, что величина вращения достигает максимального положительного значения при 518—535 *ммк* и затем становится более отрицательной, проходя через нуль между 551 и 604 *ммк*.

Производное L-пролина (рис. 5) имеет максимум при 480 *ммк*, что, по-видимому, связано с образованием тетрациклической системы [202].

Конфигурация диасимметрических α-аминокислот. При исследовании применимости *правила Пфейффера — Христлейта* к аминокислотам, содержащим более одного асимметрического центра, была изучена дисперсия оптического вращения медных комплексов L- и L-*алло*-форм оксипролина, изолейцина, β-фенилсерина, треонина и О-метилтреонина при 365, 405, 435, 546 и 578 *ммк* [203]. Медные комплексы не выделяли, а обычно получали в водных растворах добавлением точно 1 экв. соответствующей аминокислоты к 1 экв. ацетата меди. В табл. 30 приведены значения молекулярного вращения полученных растворов при различных значениях длин волн. Эти данные показывают, что в согласии с *правилом Пфейффера — Христлейта* вращение L-антиподов изолейцина, *алло*-изолейцина О-метилтреонина, треонина, оксипролина и фенилсерина достигает или приближается к положительным значениям при 435—546 *ммк*. Однако L-*алло*-формы оксипролина, фенилсерина, треонина и О-метилтреонина не подчиняются достаточно точно этому правилу.

Таблица 30

Полное молекулярное вращение медных комплексов диасимметрических аминокислот при различных длинах волн [a] [203]

L-Аминокислоты	Молекулярное вращение, градусы при длине волны, *ммк*				
	578	546	435	405	365
Изолейцин	+21	+42	−17	−26	−102
алло-Изолейцин	−7	+10	−59	−90	−127
О-Метилтреонин	−51	−12	−127	−180	−266
О-Метил-*алло*-треонин	+185	+176	+104	+97	+113
Треонин	−22	−49	−157	−214	−328
алло-Треонин	+117	+150	+92	+58	+131
Оксипролин	−170	−212	−224	−285	−361
алло-Оксипролин	+46	+245	+237	+214	+274
Фенилсерин	−70	−88	−238	−303	−445
алло-Фенилсерин	+292	+391	+301	+306	+323

[a] Оптическое вращение определялось фотоэлектрическим поляриметром при температуре 25—27°. Молекулярное вращение рассчитано на молекулярный вес аминокислоты.

Однако следует подчеркнуть, что полное молекулярное вращение диасимметрических аминокислот равно сумме парциальных молярных вращений α- и ω-асимметрических центров (раздел 10). Поскольку образование медного комплекса такими аминокислотами связано в первую очередь с участием в реакции функциональных групп α-асимметрического центра, введение в молекулу второго центра асимметрии может в принципе изменять характерные зависимости оптической конфигурации и вращения, свойственные лишь одному α-асимметрическому центру. Поэтому интерпретацию данных с целью выяснения конфигурации α-центра можно сделать лишь путем вычислений, суть которых изложена ниже.

Полное молекулярное вращение медных комплексов α-аминокислот с двумя центрами асимметрии можно рассматривать как функцию суммы парциальных молярных вращений каждого асимметрического центра, что выражается уравнениями:

$$[M]_L = \alpha_L + \omega_L$$

и

$$[M]_{L\text{-алло}} = \alpha_{L\text{-алло}} + \omega_{L\text{-алло}},$$

где $[M]_L$ и $[M]_{L\text{-алло}}$ — значения полного молярного вращения медных комплексов L- и L-*алло*-форм аминокислот, а α_L, $\alpha_{L\text{-алло}}$, ω_L и $\omega_{L\text{-алло}}$ — значения парциального молярного вращения α- и ω-центров асимметрии. Сложение этих уравнений дает

$$[M]_L + [M]_{L\text{-алло}} = \alpha_L + \omega_L + \alpha_{L\text{-алло}} + \omega_{L\text{-алло}}.$$

Однако α-асимметрические атомы углерода L- и L-*алло*-форм данной аминокислоты имеют одинаковую конфигурацию, и поэтому в данном случае можно допустить, что они имеют одинаковую величину вращения, т. е. $\alpha_L = \alpha_{L\text{-алло}}$. ω-Центры имеют противоположную конфигурацию и, следовательно, противоположный знак вращения, т. е. $\omega_L = -\omega_{L\text{-алло}}$. Подставляя эти значения в последнее уравнение и делая простейшие преобразования, получим

$$2\alpha_L = 2\alpha_{L\text{-алло}} = [M]_L + [M]_{L\text{-алло}}$$

или

$$\alpha_L = \alpha_{L\text{-алло}} = 0{,}5\,([M]_L + [M]_{L\text{-алло}}),$$

а также

$$\omega_L = -\omega_{L\text{-алло}} = 0{,}5\,([M]_L - [M]_{L\text{-алло}}).$$

С помощью этих уравнений были вычислены значения парциального молярного вращения α- и ω-асимметрических центров каждой из исследованных диасимметрических аминокислот [203]. Эти значения, приведенные в табл. 31, показывают, что, за исключением диастереомерных L-форм изолейцина, вклад ω-асимметрического центра в значение полного молярного вращения у всех изученных диасимметрических аминокислот всегда значительно выше, чем вклад α-асимметрического центра. Поэтому большая величина вращения второго центра асимметрии может полностью маскировать вращение, обусловленное α-центром, что приводит к неправильным выводам относительно связи между конфигурацией α-атома и оптическим вращением молекулы. Это подтверждается данными для L-*алло*-форм О-метилтреонина, оксипролина и фе-

Таблица 31

Парциальные доли молярного вращения α- и ω-асимметрических центров диасимметрических аминокислот в виде их медных комплексов [203]

L-Аминокислота	Парциальные молярные доли вращения, градусы при длинах волн, ммк									
	578		546		435		405		365	
	α	ω	α	ω	α	ω	α	ω	α	ω
Изолейцин	+7	+14	+26	+16	−38	+21	−58	+32	−115	+13
алло-Изолейцин	+7	−14	+26	−16	−38	−21	−58	−32	−115	−13
О-Метилтреонин	+67	−118	+82	−94	−12	−116	−42	−139	−77	−190
О-Метил-*алло*-треонин	+67	+118	+82	+94	−12	+116	−42	+139	−77	+190
Треонин	+48	−70	+51	−100	−33	−125	−78	−136	−99	−230
алло-Треонин	+48	+70	+51	+100	−33	+125	−78	+136	−99	+230
Оксипролин	−62	−108	+17	−229	+7	−231	−36	−250	−44	−318
алло-Оксипролин	−62	+108	+17	+229	+7	+231	−36	+250	−44	+318
Фенилсерин	+111	−181	+152	−240	+32	−270	+2	−305	−61	−384
алло-Фенилсерин	+111	+181	+152	+240	+32	+270	+2	+305	−61	+384

нилсерина. Однако если ограничиться рассмотрением вклада α-асимметрического центра для каждой из аминокислот, зависимость между оптической дисперсией медных комплексов и конфигурацией полностью согласуется с трактовкой Пфейффера — Христлейта. Так, из данных табл. 31 видно, что оптическое вращение α-центра во всех исследованных случаях или достигает, или приближается к максимальному значению в области 435 —546 *ммк*. Итак, следовательно, можно утверждать, что *эмпирическое правило Пфейффера — Христлейта не всегда применимо к медным комплексам аминокислот, содержащих более одного центра асимметрии, если учитывать полное молярное вращение, однако оно полностью приложимо к дисперсии оптического вращения таких аминокислот, если учитывать лишь вклад α-асимметрического центра.*

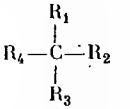
15. Теории оптической активности. Одним из необходимых условий стереохимических исследований является создание совершенной теории, которая позволила бы не только точно предсказывать форму кривой дисперсии оптического вращения оптически активной молекулы, но также и определять абсолютную конфигурацию молекулы, основываясь исключительно на направлении оптического вращения. Хотя и были предприняты многочисленные усилия для создания такой теории, до сих пор не существует способов удовлетворительно предсказывать оптическое поведение более или менее сложных молекул. Несмотря на явную неадекватность этих теорий, представляется целесообразным все же кратко осветить с исторической точки зрения наиболее известные из них. Различные выводы, сделанные с целью количественно объяснить вращательную способность на основе физических данных, были вплоть до 1940 г. весьма полно и удачно суммированы Куном [204], Лаури [112], а также Козманом, Вальтером и Эйрингом [205]. Следует также упомянуть о двух симпозиумах, организованных Фарадеевским обществом в 1914 и 1930 гг., на которых обсуждалось большинство теоретических и практических аспектов этой проблемы [206, 207].

Концепции Гюи и Брауна. Классические работы Гюи [208] и Брауна [209], появившиеся в 1890 г., являются одними из наиболее ранних попы-

ток вывести количественные зависимости между оптической активностью молекулы, содержащей один асимметрический атом углерода, и рядом параметров, связанных с этой асимметрией. Исходя из предположения, что асимметрия молекулы является функцией масс каждой из четырех различных групп, окружающих тетраэдрический атом углерода, эти исследователи вывели следующую зависимость:

$$P = \frac{(m_1-m_2)(m_1-m_3)(m_1-m_4)(m_2-m_3)(m_2-m_4)(m_3-m_4)}{(m_1+m_2+m_3+m_4)^6},$$

где P — «произведение асимметрии», пропорциональное оптическому вращению, m — масса каждого из заместителей, связанных с асимметрическим атомом углерода, а индексы 1, 2, 3 и 4 характеризуют пространственное положение каждой из групп, окружающих центр асимметрии, т. е.



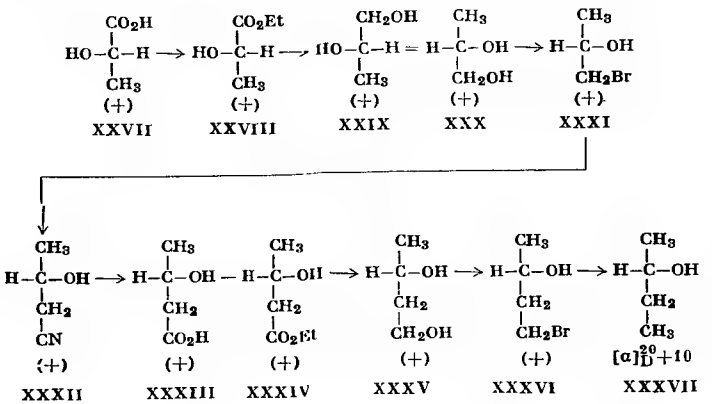
Из этого уравнения ясно видно, что нулевое вращение получается в том случае, если два заместителя идентичны, а если изменяется знак одного из шести членов, записанных в числителе, то это приводит к изменению направления вращения. Несмотря на заманчивую простоту, непригодность этого уравнения становится очевидной, как только мы вспомним, что вклад изомерных групп с одинаковой массой в полную вращательную способность вещества не обязательно должен быть одинаковым. Однако интересно отметить, что в отдельных случаях это уравнение удовлетворительно совпадает с опытными данными, например в случае алифатических углеводородов, у которых изменение массы радикалов происходит параллельно с изменением электронной структуры.

Позднейшие теории оптической активности. Вслед за концепцией Гюи и Брауна были предприняты попытки создать теоретические основы оптической активности, главным образом исходя из электромагнитной теории света. Несмотря на то что применялись различные подходы к проблеме, все они привели к аналогичным формулам для дисперсии оптического вращения в области пропускания. Поскольку математическая трактовка этих теорий весьма сложна, а предмет в целом весьма узок и мало разработан, детальное обсуждение этого вопроса в рамках настоящей книги нецелесообразно. Однако имеет смысл кратко упомянуть наиболее важные из этих теорий. Большинство из них, по-видимому, возникло в связи с разработкой Друде [191] в 1896 г. уравнения дисперсии оптического вращения, уже обсуждавшегося в разделе 13. Это уравнение, являющееся модификацией известных дисперсионных формул обычной рефракции, созданных Максвеллом, Селлмейром, Кеттелером и Гельмгольцем, основано на рассмотрении активной молекулы как содержащей осцилляторы (электрические заряды), которые из-за колебаний вдоль спирали по-разному взаимодействуют с *право*- и *лево*-циркулярно поляризованным светом. Любопытно, что хотя Кун [210] указал на несоответствие модели Друде его математической трактовке (эта модель, кроме того, вообще не должна проявлять оптической активности), выведенная на основе ее формула тем не менее оказалась правильной и являлась основополагающей для последующих исследований в области дисперсии оптического вращения.

Новейшие работы по теории оптического вращения обычно связывают с появившимися в 1915 г. теориями Озеена [211] и Борна [212], которые рас-

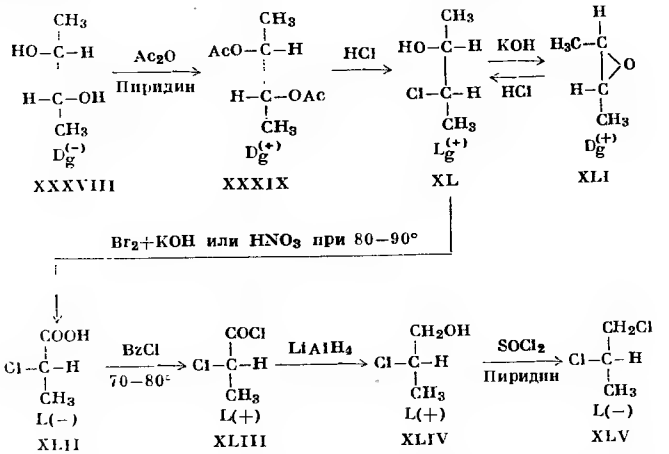
сматривали молекулу как систему электрически заряженных частиц, поляризующихся и осциллирующих в электрическом поле световой волны; согласно этой теории связанных осцилляторов, оптическая активность возникает вследствие спаривания таких осцилляторов. Соображения о природе электронного взаимодействия, приводящего к появлению оптической активности, были опубликованы Томсоном [213] в 1920 г., а Кун [214, 215] спустя 10 лет рассмотрел применение *теории связанных осцилляторов* Борна к определенным молекулярным моделям. Кондон, Альтар и Эйринг [216] методами квантовой механики показали, что оптическая активность не обязательно является следствием динамического связывания двух или более электронных осцилляторов, а может возникать из-за перемещения электрона хромофорной группы в дисимметричном поле асимметрической молекулы. Теории другого типа, связанные с вычислением величины оптического вращения в терминах электронной поляризуемости (и, следовательно, рефракции) четырех различных заместителей, окружающих асимметрический центр, были предложены де Маллеманном [217] и Бойсом [218]. В возникшей позднее *теории поляризуемости Керквуда* [219, 220], напротив, использован ряд допущений с целью упрощения квантовомеханической формы теории Борна. В результате было получено простое выражение вращательных параметров активной молекулы в терминах геометрической конфигурации и тензоров поляризуемости составляющих групп.

Несмотря на значительное количество времени, многочисленные усилия и математическую изобретательность, вложенные в создание «идеальной» теории оптической активности, до сих пор не удалось разработать метода, позволяющего надежно приписывать стереохимические конфигурации на основе теоретических соотношений. В связи с этим интересно отметить, что теория Бойса [218], *теория связанных осцилляторов* в интерпретации Куна [215], *теория поляризуемости* Керквуда [219] и *одноэлектронная теория* [221] были использованы для вычисления оптического вращения и предсказания абсолютной пространственной ориентации (абсолютной конфигурации) бутанола-2. Знание абсолютной конфигурации этого соединения могло бы в свою очередь помочь установлению абсолютных конфигураций всех других соединений, с которыми возможна его корреляция. Действительно, стереохимическая эквивалентность правовращающей формы бутанола-2 (XXXVII) и L-(+)-молочной кислоты (XXVII) была уже установлена исследованиями Левена и сотрудников [222—224] с помощью ряда превращений, представленных на следующей схеме:



С другой стороны, конфигурационная зависимость между L-(+)-молочной кислотой и L-(—)-серином также была установлена кинетическими методами (см. раздел 26). Однако, поскольку вышеуказанные теоретические методы в настоящее время дают противоречивые и поэтому ненадежные результаты при установлении абсолютной конфигурации бутанола-2, абсолютные конфигурации всех коррелируемых с ним соединений также недостоверны.

В 1952 г. Вуд, Фиккетт и Керквуд [16], основываясь на *теории поляризуемости*, приписали абсолютные конфигурации энантиомерам 2,3-эпоксибутана (XLI) и 1,2-дихлорпропана (XLV). Конфигурация каждого из этих соединений относительно L-(—)-α-хлорпропионовой кислоты (XLII) была ранее установлена Лукасом в сотрудничестве с Гарнером [17, 18] и Фиккеттом [18] методом, представленным на схеме. В качестве исходного вещества был использован бутандиол-2,3 (XXXVIII) (D_g-конфигурации по номенклатуре углеводов).



Поскольку известна конфигурационная эквивалентность L-(—)-α-хлорпропионовой кислоты, L-(—)-серина и L-(+)-молочной кислоты (раздел 26), полученные данные позволяют приписать абсолютную конфигурацию также и двум последним соединениям. Эти отнесения показывают, что правило Фишера правильно выражает абсолютные конфигурации, и подтверждают заключение Бижвута, Пирдемана и Ван-Боммеля [14], сделанное ранее на основе рентгеноструктурного изучения смешанного тартрата натрия и рубидия.

Эмпирическая зависимость между молекулярным вращением и структурой гомологичных α-аминокислот с нормальной цепью. Обнаруженная Томсоном [225] интересная зависимость между структурой и молекулярным вращением позволяет предсказать с достаточной степенью точности величину молекулярного вращения оптически активных молекул некоторых типов. Метод основан на вычислении вклада, вносимого каждой из четырех групп, связанных с асимметрическим атомом углерода, во вращение молекулы, вследствие чего вычисленные значения оказываются зависящими от строения групп и их расположения в пространстве. Исходя из нормального значения тетраэдрического угла для углерода (109° 28′), векторная составляющая силы, с которой заместитель X действует на метильную группу, может быть выра-

жена в виде X·(cos 70°32′) или 0,333 X. Аналогично, влияние заместителя на этильную группу будет $^1/_9$ X, или для любой ω-X-алкильной группы эта величина будет равна $\left(\frac{1}{3}\right)^n \cdot X$, где n — число атомов углерода, расположенных между группой X и центром асимметрии. Значение X, выражающее вклад данного атома в оптическое вращение, вычисляется эмпирически из уравнения Гюи [208] и Брауна [209], а также из наблюдаемых значений оптического вращения соединений с известной структурой. Для углерода значение X оказалось равным 2,5 [225].

На основе открытой Томсоном зависимости было предложено [109] эмпирическое уравнение, позволяющее с достаточно высокой степенью точности вычислить молекулярное вращение в 5 н. HCl аланина и гомологичных ему α-аминокислот с нормальной цепью. В этом уравнении

$$\text{Вычисленное } [M]_D = 13{,}0 + \left[\left(\frac{1}{3}\right)^n \cdot 2{,}5 \cdot 14 \cdot 2^{n-2} \cdot n \cdot (n-1)\right],$$

где 13,0 — значение $[M]_D$ для L-аланина в 5 н. HCl, n — число атомов углерода, содержащихся в боковой цепи, которая связана с асимметрическим атомом; 2,5 — атомная константа оптического вращения углерода и 14 — молекулярный вес каждой из CH_2-групп, входящих в боковую цепь. Совпадение между наблюдаемыми и вычисленными значениями видны из табл. 32.

Таблица 32

Зависимость между наблюдаемыми и вычисленными значениями молекулярного вращения гомологичных α-аминокислот [а] [109]

L-Аминокислота	n	Наблюдаемое $[M]_D$ [б], градусы	Вычисленное $[M]_D$, градусы
Аланин	1	13,0	(13,0)
Бутирин	2	21,2	20,8
Норвалин	3	28,2	28,6
Норлейцин	4	32,1	33,7
α-Аминогептановая кислота	5	33,8	36,0
α-Аминокаприловая кислота	6	36,6	36,1
α-Аминононановая кислота	7	34,6	34,5

[а] Вычислено по формуле $[M]_{D\ выч} = 13{,}0 + [(^1/_3)^n \times 2{,}5 \cdot 14 \cdot 2^{n-2} \cdot n(n-1)]$.

[б] В 5 н. HCl.

Интересно, что вычисленные значения оптического вращения достигают оптимальных при $n = 5 - 6$ и затем падают. Такое же явление наблюдается и для экспериментальных значений. К сожалению, из-за нерастворимости высших членов этого гомологического ряда в соляной кислоте невозможно проследить это явление далее α-аминононановой кислоты и тем самым подтвердить, что максимальное оптическое вращение достигается при $n = 6$. Это уравнение неприменимо к ряду гомологичных соединений в том случае, если использовать экспериментально найденные значения молекулярного вращения в растворе уксусной кислоты. Оно также неприменимо в его настоящем виде к α-аминокислотам с разветвленной углеводородной цепью в растворах соляной или уксусной кислот.

Биологические методы

16. Общие соображения. Живые организмы, а также некоторые фракции тканей и содержащиеся в них ферменты обладают замечательной способностью вызывать метаболизм, усваивать или химически изменять предпочтительно один из антиподов рацемической аминокислоты или соответствующего ее производного, оставляя другой антипод незатронутым. Поэтому аминокислоте неизвестной структуры можно с высокой степенью достоверности приписать D- или L-конфигурацию, если один из ее оптических изомеров чувствителен к действию биологического агента, специфичность которого в отношении аминокислот известной конфигурации доказана. Использованный здесь *термин «специфичность» описывает свойство биологических агентов вызывать лишь один особый тип действия в отношении какого-либо одного субстрата или в отношении ограниченного числа структурно сходных субстратов.* Степень, в какой D- или L-антиподы аминокислот чувствительны к специфическому действию данной биохимической системы, определяется способностью этих субстратов удовлетворять как структурным, так и оптическим требованиям этой системы. Эти требования обычно выражают терминами *субстратная* (или *структурная*) специфичность и *антиподная* (или *стереохимическая*) *специфичность*. В качестве иллюстрации первого из этих требований биологической специфичности, а именно той, что связана со структурой, можно привести факт неспособности некоторых плесеней расти на среде, содержащей β-амино-α-оксипропионовую кислоту (изосерин) или β-аминомасляную кислоту, тем не менее прекрасно растущих на той же среде, но содержащей в качестве источников азота α-амино-β-оксипропионовую кислоту (серин) или α-аминомасляную кислоту (бутирин) [226]. В этих случаях для метаболического расщепления аминокислоты организмом необходимо, чтобы она обладала структурой, характерной для α-аминокислот. Антиподная специфичность видна на примере чувствительности различных L-аминокислот и устойчивости их D-антиподов к стереоспецифическому окислительному действию оксидазы L-аминокислот [227].

Отсюда ясно, что для определения стереохимической конфигурации с помощью биологических агентов необходимо, во-первых, чтобы организм или его активная фракция были способны изменять химическую структуру рацемата, и, во-вторых, чтобы метаболизм одного из двух составляющих рацемат антиподов протекал со значительно отличающейся скоростью, чем метаболизм другого антипода. Важно помнить, что из-за структурных различий некоторые аминокислоты данного конфигурационного ряда могут оказаться чувствительными к метаболическому действию данной биологической системы, в то время как другие аминокислоты того же ряда будут к этой системе не чувствительны. Однако, если даже такая чувствительность обнаружена, метаболизм различных субстратов обычно происходит с различными относительными скоростями. Так, L-форма лейцина быстро окисляется *офио*-оксидазой L-аминокислот, L-аланин реагирует с ней лишь медленно, а L-серин практически инертен. Аналогично, D-формы метионина и аргинина окисляются энзиматически оксидазой D-аминокислот из почек

свиньи с существенно различными скоростями, тогда как ни α-аминокислоты L-конфигурации, ни α-метиламинокислоты любой конфигурации совершенно не способны подвергаться окислению этой ферментной системой [123]. Более того, ряд биологических агентов, таких, как дрожжи, реагируют как с L-, так и с D-антиподами различных аминокислот, но скорость реакции с первыми выше, чем со вторыми (ср. с работой [109]). Итак, по-видимому, химический состав, молекулярный вес, наличие функциональных групп, структура и стереохимическая конфигурация молекулы являются факторами, определяющими степень чувствительности субстрата к метаболическому действию данной биологической системы. Относительная структурная и оптическая специфичность биологического агента не являются неизменными характеристиками.

Все это свидетельствует о том, что биохимические системы могут обладать или *относительной*, или *абсолютной специфичностью*, или той и другой вместе. Относительная специфичность определяет различие в типе и степени чувствительности различных субстратов при действии одного и того же биологического агента. Абсолютную специфичность обычно рассматривают как склонность, проявляемую или веществом, или отдельной группой веществ подвергаться действию биологического агента, причем последний не должен действовать на другие структурно сходные соединения. Таким образом, относительная специфичность отражает количественные различия, а абсолютная — качественные. В зависимости от применяемых условий для данной биологической системы возможен переход от первого типа специфичности ко второму, однако обратный переход обычно не наблюдается. Поскольку при определении стереохимической конфигурации биохимическими методами используют антиподную специфичность, которая может быть и относительной и абсолютной, мы в следующих разделах специально остановимся на рассмотрении каждого типа специфичности.

При этом мы будем различать следующие биологические методы, используемые с целью определения конфигурации α-аминокислот: а) усвоение или расщепление микроорганизмами; б) асимметрическое окисление с помощью оксидаз L- и D-аминокислот; в) метаболизм высшими животными; г) асимметрический синтез, управляемый различными протеазами; д) асимметрический гидролиз, вызываемый стереоспецифическими ацилазами и амидазами. Следует отметить, что заметная антиподная специфичность, проявляемая этими биологическими средствами, позволила успешно применить их для создания удобных методов разделения аминокислот (гл. 3). Эти методы разделения сыграли двойную роль, позволив осуществить получение оптически активных форм из рацемических аминокислот и в то же время доказать конфигурацию полученных антиподов. Хотя обсуждение этих вопросов будет ограничено главным образом последним аспектом применения биологических систем, характер используемых методов требует некоторых объяснений методов разделения. Само по себе обсуждение методов разделения здесь сведено к минимуму, поскольку более детально они рассмотрены в гл. 3.

17. Усвоение и расщепление микроорганизмами. Признание стереоспецифичности метаболического действия, которым обладают живые организмы, последовало за блестящими исследованиями Луи Пастера [228], который в 1858 г. показал, что плесень *Penicillium glaucum* бурно растет в разбавленных растворах рацемического тартрата аммония, расходуя правовращающий изомер, но практически не способна усваивать левовращающую форму. Спустя три десятилетия эти классические исследования Пастера побудили Шульце и Босхарда [229] исследовать рост того же микроорганизма на среде, содержащей рацемическую форму лейцина или глутаминовой кислоты; им удалось выделить оптически активные формы этих аминокислот из культуральной жидкости. Полученные таким способом лейцин и глутаминовая кислота обладали в растворе соляной кислоты удельным вращением соответственно —17,5 и —33,3°, т. е. значениями, которые оказались в обоих случаях противоположными по знаку и почти равными по величине значениям, найденным для тех же соединений, выделенных из гидролизатов белков. Это было первым случаем получения энантиомеров α-аминокислот белковой природы и дало первые указания на значительную (если не абсолютную) избирательность живых организмов в отношении стереоизомерных форм аминокислот, входящих в белки.

Плесени. В годы, последовавшие за публикацией замечательного исследования Шульце и Босхарда, появился ряд работ, посвященных применению различных микроорганизмов для получения оптически активных аминокислот. Так, в 1888 г. Энгел [230] показал, что если раствор рацемической аспарагиновой кислоты подвергнуть спонтанному заражению выдерживанием на воздухе, правовращающая форма исчезает скорее, чем метаболически более инертный левовращающий изомер. Спустя 6 лет Меноцци и Аппиани [231] подтвердили данные Шульца и Босхарда в отношении стереоспецифического действия *Penicillium graucum* на рацемическую глутаминовую кислоту и привели для полученного вещества $[\alpha]_D^{26}$ —29,5° (в растворе HCl). Эта величина удельного вращения лишь немного ниже принятой в настоящее время величины $[\alpha]_D$ —32° (2% в 5 н. HCl) для D-антипода [142, 232]. В 1889 г. Фишер [233] культивировал *Penicillium griseus* и *Aspergillus niger* на 2%-ном растворе рацемического аланина с целью получить оптически активное соединение. Оказалось, что рост первого микроорганизма был очень слабым, тогда как второй рос значительно лучше. В результате использовалось лишь 10% исходного рацемического вещества. Из культуральной жидкости был затем выделен аланин с низкой величиной левого вращения в соляной кислоте и в воде. Эти исследования были позднее повторены Мак-Кензи и Хардином [234], которые при культивировании *Penicillium griseus* и *Aspergillus niger* выделяли соединения со значениями $[\alpha]_D$ соответственно —3,7 и —3,9° (хлоргидраты в воде). Хотя эти значения были несколько выше тех, которые были получены Фишером, тем не менее по сравнению со значением —9,68,° определенным в тех же условиях для (—)-аланина, полученного методом химического разделения [233], они оказались существенно ниже. Более интересным оказался метод использования *Aspergillus niger*, разработанный Нейбергом и Майером [235]. Эти исследователи обрабатывали левовращающий цистин горячей HCl под давлением, причем он, по крайней мере частично, превращался в рацемический цистин. При культивировании этого почти оптически неактивного цистина с *Aspergillus niger* был получен препарат цистина с $[\alpha]_D^{18}$ + 93,8° (в HCl). Низкое вращение правого изомера по сравнению с обычно принятым значением +212° (в 1 н. HCl) объяснялось присутствием оптически неактивного *мезо*-цистина. Наконец, Чикано [236] в 1929 г. описал применение *Oidium lactis* для получения (+)-тирозина ($[\alpha]_D$ +10.5° в 4%-ной HCl) из рацемата (ср. с работой [237]). В каждом из вышеприведенных случаев исследователи сталкивались с тем, что оптически активные аминокислоты, которые они выделяли из культуральной жидкости, были энантиомерны соответствующим формам, содержащимся в белках. Это согласовывалось с первыми наблюдениями Шульце и Босхарда [229].

Хотя ранее исследователям иногда удавалось выделить аминокислоты с достаточно высокой оптической чистотой путем асимметрического действия плесеней на соответствующие рацематы, это отнюдь не было правилом. В связи с этим интересно вспомнить данные Мак-Кензи и Хардина [234], которые в 1903 г. показали, что культуры плесени, к которым добавлялись рацемические α-оксикислоты, часто дают продукты с низкой оптической чистотой. Эти результаты объяснялись авторами [234] одним из следующих обстоятельств: а) «Только один из антиподов подвергается действию плесени, другой же остается неизмененным. Количество активного компонента, остающегося в этом случае, равно половине расщепляемого вещества, причем оно может из-за условий опыта находиться в смеси с большим или меньшим количеством исходного неактивного вещества ; б) оба вещества подвергаются одновременно действию плесени, но с различными скоростями. В этом случае количество остающегося активного компонента должно быть меньше, чем половина расщепляемого вещества». В 1910 г. Прингсхейм [238] доказал, что при асимметрическом действии плесени на α-аминокислоты реализуется именно эта вторая возможность. Он изучал стереоспецифическое поведение различных видов плесеней в отношении рацемических форм лейцина и глутаминовой кислоты. Для этой цели использовались чистые штаммы живых и растущих плесеней, которые вносили в растворы соответствующей рацемической аминокислоты с добавкой или без добавки глюкозы. Последующее выделение и оптическое изучение неизмененной части введенного рацемата позволило выяснить степень, с которой каждый из изомеров вступает в реакцию. Изучение данных, полученных Прингсхеймом (табл. 33), показывает, что в ряде случаев рост плесени сопровождается более легким метаболизмом одного из энантиомеров по сравнению с другим. Однако в других случаях быстрый рост наблюдался и тогда, когда скорость метаболизма обеих изомеров была одинакова или почти одинакова. В тех случаях, когда предпочтительно изменяется один из изомеров рацемата, как правило, наиболее чувствительным оказывается тот изомер, который встречается в белках. Однако никогда чувствительности обоих антиподов не различаются столь сильно, чтобы можно было выделить вещество с достаточной степенью оптической частоты. *Антиподная специфичность плесеней имеет относительный, а не абсолютный характер.*

Дрожжи. Хотя исследования, проводившиеся с различными видами плесеней, весьма убедительно доказали, что микроорганизмы предпочтительно метаболизуют L-антиподы α-аминокислот, из-за ограниченного числа изученных соединений эти выводы нельзя было считать совершенно бесспорными. Имевшиеся сомнения были в значительной степени сняты тщательно проведенными исследованиями Эрлиха [239], которые были начаты в 1906 г. Эти исследования создали прочную основу концепции преимущественного стереоспецифического действия микроорганизма на соединения L-ряда. При этом Эрлих отказался от применения в качестве активных биологических агентов плесеней, а использовал вместо них клетки дрожжей. Этот выбор был продиктован в значительной степени классической работой Фишера [240] по применению тех же организмов для получения неприродных форм гексоз из их рацемических модификаций. Так, живые и растущие клетки дрожжей, ферментируемые на среде, содержащей сахар и какую-либо рацемическую аминокислоту, действуют обычно со значительно большей скоростью на тот изомер аминокислоты, который встречается в белках, чем на соответствующий энантиомер. Последний остается неизмененным и может быть выделен из культуральной жидкости, часто с высокой степенью оптической чистоты.

Таблица 33

Степень метаболизма оптических форм, исходящих в рацемические лейцин и глутаминовую кислоту под влиянием различных видов плесеней [236]

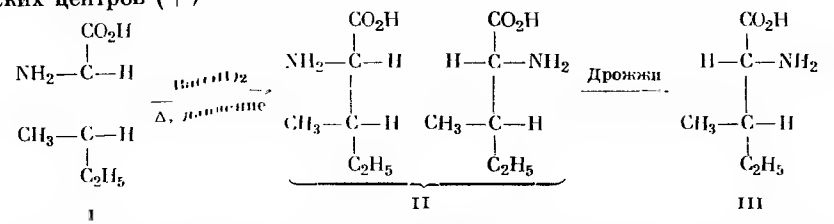
Вид плесени	Среда		Выделено лейцина, %	$[\alpha]_D^{20}$ (в 20%-ной HCl) выделенного лейцина, градусы	(−)-Лейцин в выделенном лейцине [а], %
	DL-лейцин, %	глюкоза, %			
Allescheria gayonii	1,0	2,0	64	0	0
То же	1,0	0	30	0	0
Aspergillus niger	1,0	2,0	6	−6,9	43
Aspergillus wentii	0,5	2,0	11	−8,6	54
Hyphomycetes rosellus	1,0	1,0	29	0	0
Mucor corymbifer	0,5	2,0	38	0	0
Mucor javanicus	1,0	0	18	−8,6	54
Mucor mucedo	0,5	2,0	27	−9,8	61
То же	1,0	0	62	0	0
Mucor rhizopodiformis	1,0	1,0	44	0	0
То же	1,0	1,0	54	−3,3	21
Oidium lactis	1,0	0	15	−12,1	76
Phoma betae	1,0	0	8	−6,6	42
Rhizopus tonkinensis	1,0	2,0	45	−4,9	31
То же	1,0	2,0	10	−8,1	51
» »	0,5	1,0	43	0	0
	Среда				
	DL-глутаминовая кислота, %	глюкоза, %	Выделено глутаминовой кислоты, %	$[\alpha]_D$ (в воде) выделенного хлоргидрата глутаминовой кислоты, градусы	(−)-Глутаминовая кислота в выделенной глутаминовой кислоте [б], %
Mucor rhizopodiformis	0,9	0,5	—	−3,2	10
Penicillium purpurogenum	1,0	1,0	45	−3,3	11
То же	0,5	1,0	—	−24,9	81

[а] Для оптически чистого (−)-лейцина принято значение $[\alpha]_D$ − 15,9° в (20%-ной HCl).

[б] Для оптически чистого хлоргидрата (−)-глутаминовой кислоты принято значение $[\alpha]_D$ − 30,45° (в воде).

Этим способом получены следующие оптически активные формы аминокислот (приведены также значения $[\alpha]_D^{20}$): хлоргидрат (—)-аланина (—9,8°, в воде) [239]; (—)-глутаминовая кислота (—30,0°, в воде, содержащей 1 экв. HCl) [241]; (+)-гистидин (—7,9°, в воде, содержащей 3 экв. HCl, и +37,9° в чистой воде) [241]; (—)-изолейцин (—12,7°, в воде, и —40,1°, в 20%-ной HCl) [241]; (—)-*алло*-изолейцин (—14,4°, в воде, и —37,0°, в 20%-ной HCl) [241]; (—)-изовалин (—9,1°, в воде, и —6,1°, в 20-ной HCl) [133]; (+)-лейцин (—15,4°, в 20%-ной HCl) [239]; (+)-фенилаланин (+34,6°, в воде, и +6,9°, в 20%-ной HCl) [133]; (+)-серин (+6,7°, в воде, и —14,1°, в 1 н. HCl) [133]; (—)-валин (—5,7°, в воде, и —27,4°, в 20%-ной HCl) [239]. Все эти значения удельного вращения весьма близки тем, которые приняты в настоящее время для D-антиподов указанных аминокислот. *Тем самым первоначальные заключения о значительной стереоспецифичности действия микроорганизмов на L-аминокислоты получили подтверждение и легли в основу дальнейшего применения подобных живых систем для доказательства конфигурации α-центра в таких соединениях.*

Эрлихом [241, 242] описан интересный способ использования асимметрического действия дрожжей для определения взаимосвязи β-асимметрических центров оптически активных стереомеров лейцина и *алло*-изолейцина. Осуществлен синтез смеси эпимеров изолейцина и *алло*-изолейцина из *d*-амилового спирта, причем конфигурация β-атома углерода в каждом из этих двух эпимеров была одинаковой. Рацемизацией α-асимметрического центра (+)-изолейцина (I) при нагревании его с гидроокисью бария под давлением можно получить смесь тех же стереомеров (II). При метаболическом действии дрожжей на такую смесь эпимеров предпочтительно используется (+)-изолейцин и затем из культуральной жидкости можно выделить (—)-*алло*-форму (III). Таким образом доказывается стереохимическая эквивалентность β-асимметрических центров (+)-изолейцина (I) и (—)-*алло*-изолейцина (III).



Несмотря на успехи, достигнутые Эрлихом в его первоначальных опытах, попытки выделить с помощью дрожжей оптически чистые D-формы других аминокислот, таких, как α-фенилглицин, аспарагиновая кислота, пролин и тирозин, оказались безуспешными [133, 241]. Так, из дрожжевой ферментационной смеси, содержащей рацемат фенилглицина, удалось выделить аналитически чистый образец (—)-α-фенилглицина; однако этот образец обладал очень низкой величиной оптического вращения из-за значительной примеси правовращающей L-формы. Очевидно, оба оптических антипода чувствительны к метаболическому действию дрожжевых клеток, но относительные скорости метаболизма не достаточно разнятся между собой, чтобы можно было выделить менее чувствительный оптически чистый D-антипод [133]. Аналогично, при введении дрожжей в среду, содержащую рацемические формы аспарагиновой кислоты, пролина или тирозина, по окончании ферментации удавалось выделить лишь небольшие количества оптически неактивных соединений, причем эти количества существенно уменьшались в приведенном ряду аминокислот. По-видимому, L- и D-антиподы каждой из этих

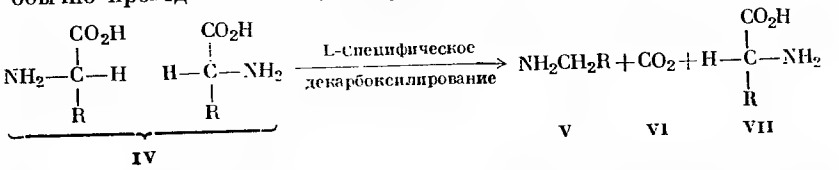
аминокислот подвергаются метаболизму с почти одинаковыми скоростями [241]. Хотя чувствительность к метаболизму у D-аминокислот в то время уже не являлась неожиданностью (в частности, Нейберг [243] показал, что L- и D-тирозин одинаково чувствительны к тирозиназе), эти факты побудили Эрлиха спустя несколько лет вернуться к этим исследованиям. Результаты их все же остались во многом непонятными [244]. Так, при добавлении небольшого количества солодового экстракта или автолизата дрожжей к ферментационной жидкости, содержавшей обе оптические формы тирозина в эквивалентных количествах, а) наблюдался усиленный рост дрожжей и б) удавалось с хорошим выходом выделить чистый D-тирозин ($[\alpha]_D^{20}$ +8,5° в 21%-ной HCl). Симметрическое метаболическое действие дрожжей на DL-тирозин трансформировалось в асимметрическое действие, направленное лишь на L-изомер. Несмотря на свои намерения расширить эти исследования на случаи симметрического расщепления оптических изомеров пролина и аспарагиновой кислоты, Эрлих не опубликовал дальнейших сообщений в этой области и не дал удовлетворительного объяснения способности культур дрожжей использовать столь же хорошо обе оптические формы одних аминокислот и не использовать другие. Однако его исследования DL-тирозина имеют значение в том смысле, что они показывают *потенциальную способность микроорганизмов изменять свою антиподную специфичность в соответствии с изменениями условий питания*, фактор, который следует иметь в виду при использовании таких живых систем для выяснения стереохимических конфигураций.

Бактерии. Как и плесени и дрожжи, бактерии проявляют известную способность предпочтительно изменять L-, а не D-α-аминокислоты. Например, если D- и L-формы аланина почти одинаково хорошо используются *Lactobacillus arabinosus* для ее роста [245], активность D-лейцина в этом отношении составляет лишь 20—60% от активности L-изомера, а D-валин и D-изолейцин в отсутствие L-изомеров вовсе не способны стимулировать рост микроорганизма [246]. Покоящиеся суспензии *Bacillus brevis* [247] и *Clostridium tetanomorphum* [248] действуют на D-глутаминовую кислоту со скоростью, меньшей, чем на L-стереомер. Полная сводка имеющихся по этому вопросу данных, сделанная Райдоном [249] в 1948 г., показывает, что способность многих D-аминокислот подвергаться метаболизму микроорганизмами в значительно меньшей степени, чем способность соответствующих L-форм, является обычно широко распространенным явлением.

Множество имеющихся в настоящее время дополнительных данных подтверждает эту точку зрения. Тем не менее существуют редкие случаи, когда D-аминокислоты используются микроорганизмами с заметно большей скоростью, чем соответствующие L-формы. Так, некоторые штаммы бактерий, принадлежащих к роду *Aerobacter*, при выращивании на среде, содержащей в качестве единственного источника азота рацемическую глутаминовую кислоту, проявляют способность быстро окислять D-антипод этой аминокислоты и лишь слабо действуют на L-форму. Выделенная из этой культуральной жидкости глутаминовая кислота имела $[\alpha]_D^{25}$ +31,2°, что хорошо согласуется со значением, найденным для чистого L-стереоизомера в растворе 5 н. HCl [250]. Аналогичным образом, D-формы глутаминовой и аспарагиновой кислот обладают высокой чувствительностью к метаболическому действию различных штаммов грибов *Aspergillus ustus* в отличие от L-форм, которые к ним совершенно не чувствительны [251, 252]. Имеют ли эти случаи активности микроорганизмов в отношении D-форм более общий характер, чем предполагалось до сих пор, покажут дальнейшие исследования.

Несмотря на вышеизложенные аномалии, большое число исследований, посвященных метаболическому поведению аминокислот в присутствии различных видов плесеней, дрожжей и особенно бактерий, подтверждают широко распространенное мнение, что использование D-аминокислот для роста микроорганизмов почти всегда сопровождается предварительным превращением их в соответствующую L-форму. Механизм такого превращения заключается или а) в окислительном дезаминировании D-аминокислоты в соответствующую α-кетокислоту ($BCOCO_2H$) и последующем аминировании до L-аминокислоты, или б) в происходящей под влиянием биологических факторов рацемизации D-аминокислоты в DL-форму, не сопровождающейся промежуточным образованием α-кетокислоты. Хотя до сих пор нет доказательств, которые бы с очевидностью свидетельствовали, что эти механизмы являются единственно возможными, выделение ферментов, обладающих рацемазной, D-аминооксидазной и L-направленной трансаминазной активностями, позволяет рассматривать их как достоверные. К сожалению, детальное обсуждение этих аспектов промежуточного метаболизма выходит за рамки настоящей книги; авторитетное обсуждение их можно найти в прекрасном трактате Мейстера [253].

Особый интерес для нас представляет способность различных микроорганизмов вызывать стереоспецифическое декарбоксилирование L-энантиомеров рацемических α-аминокислот (IV) с отщеплением карбонильной группы в виде двуокиси углерода (VI) и образованием соответствующего первичного амина (V). Поскольку D-аминокислоты совершенно не поддаются такому расщеплению, их выделение в оптически чистом виде (VII) значительно облегчается. Этим способом при действии суспензии *Bacillus brevis* Нейбергеру и Зангеру [254] удалось выделить хлоргидрат D-лизина ($[\alpha]_D^{25}$ —14,7° в 5 н. HCl) из рацемата этой аминокислоты. Аналогично, асимметрическое декарбоксилирование L-антипода глутаминовой кислоты действием высушенных клеток *Escherichia coli* на рацемат позволило Камиену, Мак-Клуру и Данну [255] выделить оптически чистый препарат D-глутаминовой кислоты ($[\alpha]_D^{25}$ — 31,7°, в 1,7 н. HCl). В ранних публикациях Гейла с сотрудниками [256] показано, что в этих двух последних случаях расщепление происходит под влиянием разных энзиматических систем. Они нашли, что декарбоксилирование L-форм аргинина, глутаминовой кислоты, гистидина, лизина, орнитина и тирозина бактериями идет в каждом случае под влиянием особой субстрат-специфической декарбоксилазы. Практически декарбоксилирование обычно проводят с помощью обработанной



ацетоном, высушенной или лиофилизованной суспензии микроорганизмов, однако можно использовать также выделенные и очищенные препараты соответствующего фермента. Вследствие высокой антиподной специфичности и исключительной легкости применения бактериальные декарбоксилазы имеют большое практическое значение для определения примесей оптических антиподов в тех случаях, когда препараты D-аминокислот загрязнены небольшими количествами L-изомеров (гл. 6).

Итак, можно утверждать, что чувствительность L-формы данной аминокислоты к метаболическому действию плесеней, дрожжей, и бактерий является в большинстве случаев или равной, или большей, чем чувствительность соответствующего D-изомера. Вследствие такой стереоспецифичности относительная степень использования D- и L-компонентов рацемической аминокислоты может служить средством определения конфигурации. Так, *если аминокислота, выделенная из культуральной среды после воздействия микроорганизма на рацемат, является оптически активной, она за редким исключением в значительной степени должна состоять из D-изомера. Определением направления оптического вращения этой аминокислоты можно идентифицировать D-антипод.* Хотя такой способ приписания стереохимической конфигурации α-аминокислотам правомерен, однако он не может считаться однозначным.

18. **Метаболизм высшими животными.** В кратком сообщении 1905 г. Вольгемут [257] описал опыт введения кроликам рацемических аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лейцина и тирозина в дозах по 5—10 *г per os*. Спустя 24 *час* он собирал мочу этих животных и выделял из различных образцов мочи (+)-лейцин с высокой степенью оптической чистоты и несколько менее чистые (—)-аспарагиновую и (—)-глутаминовую кислоты и (+)-тирозин. Полученные таким образом аминокислоты оказались энантиоморфными по отношению к оптическим формам, содержащимся в белках. Эти классические наблюдения Вольгемута подтверждены и расширены другими исследователями, которые с несомненностью показали, что образцы аминокислот, выделенные из мочи различных позвоночных после введения им умеренных или больших доз рацемических аминокислот, содержат исключительно или преимущественно соответствующие D-изомеры. Этим способом, часто с высокой степенью оптической чистоты, могут быть получены D-стереомеры аланина [258], α-аминофенилуксусной кислоты [259], аспарагиновой кислоты [260], гистидина [261—263], лейцина [264] и тирозина [153, 265, 266] (табл. 34).

Таблица 34

Удельное вращение (в градусах) D-аминокислот, выделенных из мочи различных млекопитающих после введения рацемических аминокислот

Введенная DL-аминокислота	Организм	Способ введения	Выделенная аминокислота		Литература
			$[\alpha]_D$	растворитель	
Аланин	Человек	*Per os*	от—12,8 до—14,7	20%-ная HCl	258
»	Собака	Подкожно	—14,9	20%-ная HCl	258
»	Кролик	»	—14,7	20%-ная HCl	258
»	Крыса	»	—13,5	20%-ная HCl	258
α-Аминофенилуксусная кислота	Собака	*Per os*	—153,1	0,1 н. HCl	259
То же	Кролик	» »	—151,7	HCl [a]	259
Аспарагиновая кислота	»	Подкожно	—25,4	H_2O + 3 экв. HCl	260
Гистидин·HCl·H_2O	Человек	*Per os*	—8,4	1 н. HCl	263
Гистидин	Кролик	» »	+40,2	H_2O	261
»	»	Подкожно	+37,6	H_2O	262
Лейцин	»	*Per os*	—15,3	20%-ная HCl	264
Тирозин	Кошка	» »	+8,6	4%-ная HCl	153
»	Кролик	» »	+12,5	4%-ная HCl	266

[a] Использовано немногим более 1 экв. HCl.

В дальнейшем исследованиями роста, баланса азота и включения меченных изотопами аминокислот при образовании тканей организма млекопитающих удалось подтвердить вывод о преимущественном метаболизме L-, а не D-аминокислот — вывод, который вытекал из предшествующих работ в этой области. Показано также, что большинство D-аминокислот (если не все) в малых или умеренных количествах нередко используются высшими животными, хотя в несравнимо меньшей степени, чем соответствующие L-формы. Степень этого использования, по-видимому, зависит от вида животного. Так, например, в результате введения D-гистидина морским свинкам он выделялся с мочой приблизительно количественно, однако крысы из-за их большей способности использовать эту аминокислоту проявляют и меньшую тенденцию выделять ее неизмененной [267]. Аналогично, скармливание массивных доз рацемического тирозина собакам не сопровождается появлением в моче заметных количеств свободной аминокислоты [268], в то время как образцы мочи кроликов, поставленных в те же условия опыта, содержали значительные количества D-антипода [266]. В тех случаях, когда наблюдалось использование D-аминокислот организмами, оно происходило главным образом путем энзиматического окислительного дезаминирования соответствующего соединения до α-кетокислоты и последующего стереоспецифического аминирования последней в L-аминокислоту (ср. с работой [253]). Эта точка зрения согласуется с наблюдениями, показывающими, что D-изомеры таких важных аминокислот, как аргинин [269], гистидин [270], метионин [271], фенилаланин [272], триптофан [273, 274] и валин [275], а также α-кетокислоты, соответствующие аргинину [269], гистидину [276], изолейцину [277], лейцину [277], метионину [270], фенилаланину [277, 278], триптофану [279] и валину [277], могут заменять соответствующие L-аминокислоты, поддерживая рост крыс. С этой концепцией согласуются также неспособность D-аланина (в отличие от его L-формы) служить действенным источником заменимого азота, необходимого для роста крыс [280], и высокое содержание в моче крыс и людей [281] фенилпировиноградной кислоты после введения им D-фенилаланина. Эксперименты с меченным N^{15} и дейтерием D-лейцином показывает, что эта аминокислота, будучи введена крысам, превращается в L-антипод, сохраняющий лишь небольшое количество меченого азота, но почти весь дейтерий [282]. С другой стороны, D-лизин не претерпевает сходной оптической инверсии, а скорее расщепляется по реакции, не имеющей, по-видимому, обратимого характера и не включающей в качестве промежуточного продукта α-кетокислоту [283].

Известен ряд случаев, когда введение D-аминокислоты приводит к выделению с мочой ацетильного производного соответствующего L-изомера. Так, Кнооп и Кертес [284] вводили рацемический γ-фенилбутирин собакам и выделяли затем из мочи не только правовращающую аминокислотную фракцию, но и заметное количество левовращающего γ-фенилбутирина в виде ацетильного производного ($[\alpha]_D$ +19,5° в 1 н. NaOH). По мнению Кнооп и Бланко [285], это последнее вещество образуется из соответствующей промежуточной α-кетокислоты, которая в свою очередь получается окислительным дезаминированием введенной рацемической аминокислоты. Эта точка зрения позднее была проверена дю Виньо и Айришем [286], которые, разделив на антиподы рацемический γ-фенилбутирин в виде формилпроизводного с помощью бруцина, доказали стереохимические конфигурации D-антипода ($[\alpha]^{30}_D$ —47,0° в 1 н. HCl) и L-антипода ($[\alpha]^{30}_D$ +48,8°, в 1 н. HCl), пользуясь правилом Клафа — Луца — Иргенсонса (раздел 11). Затем они скармливали каждый из этих оптических изомеров собакам и в обоих случаях выделили из мочи значительные и одинаковые количества ацетилфенил-L-бутирина. Таким образом было ясно доказано метаболическое превращение D-изомера в L-форму. Механизм, предложенный для этого превращения, заключается в первоначальном дезаминировании γ-фенил-D-бутирина до α-кетокислоты, которая затем последовательно аминируется и ацетилируется. Дальнейшие исследования с меченным N^{15} и дейтерием γ-фенил-D-бутирином подтвердили этот биосинтетический путь [287]. Гексагидрофенил-D-аланин [288] и S-бензил-D-гомоцистеин [289] проявляют такую же склонность к оптической инверсии, предшествующей превращению каждого из них *in vivo* в соответствующее ацильное производное. Дю Виньо, Вуд и Айриш [289] показали, что вполне возможно также прямое ацетилирование D-аминокислот. Они выделили из мочи крыс, которым скармливали S-бензил-D-цистеин, небольшое количество рацемического ацетил-S-бензилцистеина, причем преобладающим продуктом была ацилированная L-аминокислота. Аналогичное явление наблюдалось при введении S-бензил-D-цистеина людям [290]. Более яркое проявление этого эффекта наблюдалось при внутрибрюшинном или оральном введении *n*-бромфенил-D-цистеина крысам, причем выделялось большое количество ацетильного производного конфигурационно почти неизмененной аминокислоты [291, 292].

Из ограниченного числа приведенных здесь исследований ясно, что характер продуктов, которые обнаруживаются в моче в результате метаболизма рацемической аминокислоты организмом млекопитающего, зависит, по крайней мере частично, от природы аминокислоты, реабсорбции D- и L-антиподов и продуктов их распада почечными каналами, вида животного и количества оксидаз, ацетилаз и трансаминаз в тканях, а также от характера (часто неизвестного) бактериальной флоры в кишечнике животного (ср. с работами [293, 294]). Как бы то ни было, можно считать, что относительная стереоспецифичная избирательность метаболизма у высших животных может быть использована для выяснения конфигурации α-центра энантиомеров аминокислот. Поэтому, *если достаточно большая и точно известная доза рацемической аминокислоты введена подходящему позвоночному животному, L-составляющая должна быть им полностью использована, а значительное количество D-составляющей должно остаться неизмененным. Поскольку этот последний изомер присутствует в достаточно больших количествах, чтобы не быть полностью разрушенным организмом, избыток его обязательно должен выводиться с мочой. Последующее выделение неизмененной части D-аминокислоты из мочи и определение знака оптического вращения позволяют приписать определенную конфигурацию каждому из энантиомеров.* Правильность такого приписания зависит, конечно, от обоснованности допущения, что свободная аминокислота не претерпевает оптической инверсии до того, как она выводится с мочой. В этой связи следует подчеркнуть, что, хотя D-аминокислота может иногда выводиться в виде ацетильного производного ее L-формы, до сих пор не описано случаев, когда введение позвоночным животным D-аминокислоты приводило бы к выделению свободной L-аминокислоты.

19. Асимметрическое окисление. В 1909 г. Нейбауер [259] сообщил, что при введении кроликам или собакам рацемической α-аминофенилуксусной кислоты (VIII) наблюдается выделение с мочой (наряду с другими продуктами) фенилглиоксиловой кислоты (IX), (—)-миндальной кислоты (X) и гиппуровой кислоты (XI). На основе этих, а также предшествующих своих наблюдений Нейбауер

$$\underset{\text{VIII}}{C_6H_5CH(NH_2)CO_2H} \longrightarrow \underset{\text{IX}}{C_6H_5COCO_2H} + \underset{\text{X}}{C_6H_5CH(OH)CO_2H} + \underset{\text{XI}}{C_6H_5CONHCH_2CO_2H}$$

пришел к заключению, что дезаминирование α-аминокислот живыми организмами может происходить путем восстановления, окисления или гидролиза. В последующие годы эта точка зрения была значительно укреплена и расширена Кнопом [295]. Однако первые эксперименты, предпринятые для выяснения ферментного механизма биологического дезаминирования аминокислот, принесли мало пользы из-за отсутствия соответствующих биохимических методик. С развитием изящных количественных манометрических методов Варбурга и Ван-Слайка, Кребсу [296—298] в 1932 г. удалось впервые показать, что срезы и экстракты печени и почек млекопитающих способны окислительно дезаминировать α-аминокислоты до соответствующих α-кетокислот. Из различного типа живых организмов были выделены ферменты, осуществляющие такие превращения. Они были очищены; выяснены их специфичность, природа и свойства (ср. с работой [299]). Эти ферменты обычно называют оксидазами аминокислот.

Структурная и антиподная специфичность оксидаз аминокислот. Оксидаза аминокислоты обычно обладает абсолютной антиподной специфичностью, которая в зависимости от природы фермента может проявляться или в отношении L- или в отношении D-аминокислот. В каждом случае основной стадией катализируемого процесса является окислительное дезаминирование чувствительного к ферменту антипода аминокислоты (XII) с поглощением на каждую молекулу кислоты одной молекулы кислорода и образованием молекулы соответствующей α-кетокислоты (XV), аммиака и перекиси водорода [уравнение (1)]. Поскольку количество поглощенного в ходе реакции кислорода может быть количественно измерено с помощью респирометра Варбурга, эти измерения можно использовать для выяснения скорости и степени окисления. Если в системе присутствует каталаза, то каждая молекула образующейся перекиси водорода (XVIII) будет разлагаться с выделением половины молекулы кислорода [уравнение (2)]. В этом случае суммарная реакция может быть изображена в виде алгебраической суммы уравнений (1) и (2), т. е. уравнением (3). Следовательно, для окисления одной молекулы аминокислоты (XXI) необходима половина молекулы кислорода. Однако в отсутствие каталазы образующаяся при реакции α-кетокислота (XXV) будет декарбоксилироваться до соответствующей карбоновой кислоты (XXVII), как это показано уравнением (4). Вследствие этого на окисление одной молекулы аминокислоты-субстрата будет расходоваться одна молекула кислорода. Хотя скорость окисления можно определить также измерением количества образующегося аммиака или α-кетокислоты, такого рода измерения менее удобны, чем измерения количества поглощенного кислорода.

$$\underset{\text{XII}}{RCH(NH_2)CO_2H} + \underset{\text{XIII}}{O_2} + \underset{\text{XIV}}{H_2O} \rightarrow \underset{\text{XV}}{RCOCO_2H} + \underset{\text{XVI}}{NH_3} + \underset{\text{XVII}}{H_2O_2} \qquad 1$$

$$\underset{\text{XVIII}}{H_2O_2} \rightarrow \underset{\text{XIX}}{H_2O} + \underset{\text{XX}}{{}^1/_2O_2} \qquad 2$$

$$\underset{\text{XXI}}{RCH(NH_2)CO_2H} + \underset{\text{XXII}}{{}^1/_2O_2} \rightarrow \underset{\text{XXIII}}{RCOCO_2H} + \underset{\text{XXIV}}{NH_3} \qquad 3$$

$$\underset{\text{XXV}}{RCOCO_2H} + \underset{\text{XXVI}}{H_2O_2} \rightarrow \underset{\text{XXVII}}{RCO_2H} + \underset{\text{XXVIII}}{CO_2} + \underset{\text{XXIX}}{H_2O} \qquad 4$$

Действие оксидаз L- и D-аминокислот обычно ограничено субстратами типа $RCH(NHR')CO_2H$, где R′ является или атомом водорода, или алкильным заместителем. Однако способность оксидазы окислять незамещенную аминокислоту не обязательно связана с такой же способностью в отношении

Таблица 35

Антиподная и структурная специфичность различных оксидаз L- и D-аминокислот (относительно метионина, принятого за 100)

Аминокислота	Оксидаза L-аминокислоты				Оксидаза D-аминокислоты			
	Neurospora Crassa [а, б]	*Proteus Vulgaris* [в]	почки крыс [г]	яд кобры [б]	печень спрута [д]	*Neurospora Crassa* [е]	*Penicillium Chrysogenum* [ж, з]	почки овцы [б]
Моноаминомонокарбоновые кислоты								
Аланин	103	0	—	0	78	33	83	80
Бутирин	160	18	4	0	147	74	71	39
Изолейцин	83	23	89	0	55	38	34	23
Лейцин	195	140	125	82	78	66	110	17
Метионин	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
Норлейцин	150	166	111	78	103	52	68	45
Норвалин	188	92	66	33	129	85	—	25
Валин	15	0	35	0	50	26	59	44
Моноаминодикарбоновые кислоты								
Аминоадипиновая кислота	153	—	—	0	—	—	—	0
Аспарагиновая кислота	13	0	0	0	36	29	0	2
Глутаминовая кислота	23	0	0	0	84	41	6	0
Диаминомонокарбоновые кислоты								
Аргинин	—	46	—	—	—	80	—	—
Гистидин	93	51	11	0	90	—	—	8
Лизин	35	0	0	0	0	14	14	1
Орнитин	128	0	0	0	—	4	—	4
Ароматические α-аминокислоты								
Фенилаланин	103	154	56	118	—	85	67	33
Триптофан	68	136	50	261	23	5	20	46
Тирозин	60	95	25	81	—	—	—	238
Различные аминокислоты								
Цистин	140	—	19	0	—	—	—	2
Пролин	0	0	96	0	68	0	—	185
Серин	20	0	0	0	34	0	0	53
Треонин	5	0	0	0	—	0	7	3

[а] Штамм 3411 из Национальной коллекции типовых культур.
[б] Данные Бендера и Кребса [309].
[в] Данные Штумпфа и Грина [310].
[г] Данные Бланшара, Грина, Нокито и Ратнера [300].
[д] Данные Блашко и Хавкинса [306].
[е] Данные Горовица [311].
[ж] Штамм Q_{176}.
[з] Данные Эмерсона, Пьюзисса и Найта [312].

соответствующей N-алкил-аминокислоты. Так, например, хотя оксидаза L-аминокислот из почек крыс действует на L-формы лейцина и N-метиллейцина приблизительно в одинаковой степени [300], оксидаза L-аминокислоты, выделенная из змеиного яда, активно реагирует с первой, но не способна реагировать со второй аминокислотой [301]. Циклические иминокислоты типа пролина можно в этом отношении рассматривать как N-алкиламинокислоты, у которых N-алкильным заместителем является боковая углеродная цепь. В этом случае окислительное расщепление приводит к образованию соединений типа $NH_2CH_2 \cdot \cdot \cdot COCO_2H$, в которых свободная аминогруппа и α-кетогруппировка являются составляющими той же самой углеродной цепи, а не связаны с различными соединениями. Во всяком случае, химические и биохимические соображения говорят в пользу того, что энзиматическое окисление α-амино-, α-алкиламино-, а также α-иминокислот обычно происходит через первоначальное образование промежуточной дегидроаминокислоты [$RC(=NR')CO_2H$], которая вследствие своей чрезвычайной лабильности претерпевает неэнзиматическое гидролитическое расщепление до соответствующей α-кетокислоты ($RCOCO_2H$) и амина (NH_2R') [302, 303]. Правомерность этой концепции подтверждается тем, что такие α-аминокислоты, как изобутирин, изовалин и N,N-диметиллейцин, не содержащие одновременно хотя бы по одному атому водорода при азоте и при α-углероде, не подвергаются действию оксидаз L- или D-аминокислот. Такая же устойчивость к ферментативному окислению наблюдается у пептидов и N-ацилированных аминокислот.

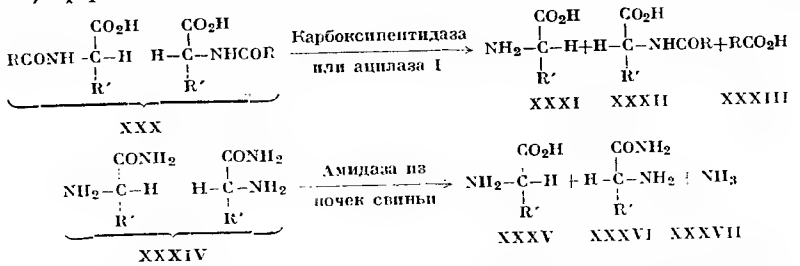
Следует подчеркнуть, что не все α-аминокислоты, обладающие требуемой оптической конфигурацией, обязательно чувствительны к энзиматическому окислению. Кроме того, относительные скорости, с которыми различные чувствительные субстраты реагируют с оксидазой аминокислоты, могут значительно изменяться от вещества к веществу и от одного вида фермента к другому. Так, хотя оксидаза L-аминокислот из *Neurospora crassa* действует на L-бутирин в десять раз активнее, чем на L-валин, этот последний изменяется под влиянием оксидазы из почек крыс примерно в девять раз быстрее, чем L-бутирин (см. табл. 35). Следует также отметить тот факт, что одни оксидазы L- и D-аминокислот являются очень специфичными и могут катализировать превращения лишь одного или ограниченного числа сходных субстратов, другие обладают значительно более широкой структурной специфичностью и способны действовать на большое число различных α-аминокислот, в том числе и различающихся по структуре. В качестве примеров субстратспецифичных оксидаз могут быть названы оксидаза D-аспарагиновой кислоты из печени и почек кроликов [304, 305] и вещество из печени некоторых цефалоподов, проявляющее оксидазную активность в отношении D-глутаминовой кислоты [306, 307]. Оксидаза L-аминокислот, активность которой, по-видимому, ограничена L-формами основных аминокислот, т. е. аргинина, лизина и орнитина, была выделена из печени индюков [308]. С другой стороны, окислительные ферменты более общей структурной специфичности были выделены из печени и почек многих позвоночных, из печени некоторых беспозвоночных, из ядов и выделений большого числа ядовитых и не ядовитых змей и из ряда видов микробов (ср. с работами [253, 229]). Относительные скорости, с которыми некоторые оксидазы L- и D-аминокислот действуют на различные субстраты, приведены в табл. 35. Особенный интерес для нас представляет оксидаза D-аминокислот из почек свиньи и оксидазная активность в отношении L-аминокислот яда гремучей змеи (*Crotalus adamanteus*), который из-за своей способности действовать на большое число структурно различных α-аминокислот особенно пригоден для установления конфигурации.

Определение конфигурации α-асимметрических центров. Если установлена антиподная специфичность оксидазы аминокислоты, то ее использование для выяснения стереохимической конфигурации α-центра α-аминокислот становится наиболее удобным и надежным методом. Поэтому если тот или другой стереомер аминокислоты оказывается чувствительным к действию оксидазы L- и D—аминокислот, что доказывается измерением поглощения кислорода в респирометре Варбурга, то тем самым ее стереохимическая идентификация завершается. Однако, поскольку не все L- и D-аминокислоты способны к энзиматическому окислению, устойчивость оптической формы к окислительному дезаминированию оксидазами L- или D-аминокислот еще не означает, что эта форма имеет соответственно D- или L-конфигурацию. Метод чрезвычайно чувствителен, а поэтому небольшая примесь одного оптического изомера к другому может в принципе привести к обнаружению поглощения кислорода; этого не произошло бы, если бы субстрат был оптически чистым. Ошибки в определении конфигурации могут, по-видимому, возникать в таких случаях, если измерения ограничивались лишь начальной фазой реакции. Поэтому, прежде чем делать выводы на основе измерений поглощения кислорода, рекомендуется, чтобы окисление доводилось почти до конца или чтобы изучалось действие той же оксидазы L- или D-аминокислоты раздельно на оба энантиомера. Этот последний способ позволил Клейну и Хендлеру [313] убедительно показать, что (—)-*алло*-треонин, а не (+)-*алло*-треонин способен окисляться оксидазой D-аминокислот, выделенной из почек свиньи; в результате первому стереомеру была приписана α-D-конфигурация, а второму α-L-конфигурация.

Альтернативным только что описанному методу является метод, когда оксидазой L- или D-аминокислоты действуют на рацемическую форму α-аминокислоты, а не на индивидуальный антипод. Этот метод также может быть использован для определения конфигурации. Так, при энзиматическом окислительном дезаминировании подходящей рацемической аминокислоты в растворе чувствительный к действию фермента изомер превращается в α-кетокислоту. После полного разложения этого изомера неизмененный антипод может быть легко выделен из маточника или осаждением спиртом, или с помощью хроматографии на колонке. Стереохимическое направление реакции известно, поскольку известен тип фермента для установления конфигураций антиподов, а поэтому достаточно определения удельного вращения выделенного вещества. Таким асимметрическим расщеплением антиподов, подверженных действию оксидазы L-аминокислот из яда гремучей змеи (*Crotalus adamanteus*) или оксидазы D-аминокислот из почек свиньи, удается получить с хорошими выходами соответственно D- или L-формы большого числа аминокислот. Более подробное обсуждение этого вопроса дано в гл. 3.

20. Асимметрический гидролиз. Начиная с 1949 г. использование стереоспецифического, направленного на L-формы действия гидролитических энзимов стало одним из наиболее часто используемых, наиболее быстрых и однозначных способов определения конфигурации антиподов аминокислот. Вкратце, метод основан на большей чувствительности L-форм рацемических ациламинокислот (по сравнению с D-формами) к гидролитическому действию ацилазы I из почек свиньи или карбоксипептидазы, а также амидов L-ациламинокислот к действию амидазы из почек свиньи. Практически метод заключается в химическом превращении данной рацемической аминокислоты в соответствующее N-ацилпроизводное (лучше всего в ацетил- или хлорацетилпроизводное) или в амид, которые затем выдерживаются при

38° и нейтральном значении pH с требуемым количеством ацилазы I, карбоксипептидазы или амидазы. После расщепления теоретического количества субстрата (XXX или XXXIV) с образованием свободной L-аминокислоты (XXXI или XXXV) (что определяется, например, измерением аминного азота в аликвотных количествах среды манометрическим методом Ван-Слайка) ферментационную среду освобождают от белка, концентрируют



в вакууме и L-аминокислоту отделяют от негидролизованного производного D-аминокислоты (XXXII или XXXVI), пользуясь их различной растворимостью в разных растворителях или с помощью ионообменных смол. Последующим кислотным гидролизом энзиматически устойчивое D-производное превращают в свободную D-аминокислоту. Определение оптического вращения энантиомеров, полученных этим способом, позволяет определить их конфигурацию.

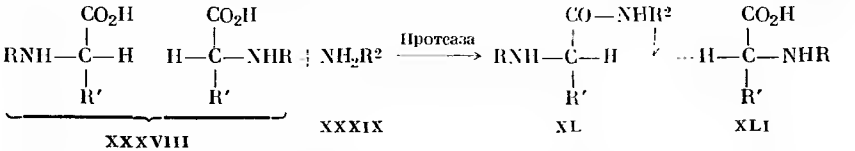
Описанный выше общий метод энзиматического расщепления был в дальнейшем использован для получения D- и L-антиподов более чем шестидесяти различных аминокислот [109]. Этот способ позволил также приписать L-конфигурацию следующим α-аминокислотам: (+)-гептилину [314], (+)-каприлину [314], (+)-нонилину [315], (+)-децилину [315], (+)-ундецилину [315], (+)-додецилину [314], (—)-*трет*-лейцину [316], (—)-аллилглицину [317], (—)-метилсерину [318], (+)-α-аминоадипиновой кислоте [319], (+)-α-аминопимелиновой кислоте [320], (+)-γ-оксиглутаминовой кислоте [136], (—)-*алло*-γ-оксиглутаминовой кислоте [136], (+)-δ-оксинорвалину [321], (+)-ε-оксинорлейцину [321], (+)-δ-оксилизину [137], (+)-*алло*-δ-оксилизину [137], (—)-этионину [142], (+)-α, ε-диаминопимелиновой кислоте [320, 322], (—)-β-фенилсерину [141] и (+)-*алло*-β-фенилсерину [141]. Знаки (+) и (—) здесь означают направление вращения в воде для всех соединений, за исключением нонилина и α-аминопимелиновой кислоты, вращение которых определялось в растворе HCl, а также децилина, ундецилина и додецилина, вращение которых определялось в растворе ледяной уксусной кислоты.

21. Асимметрический синтез. Наряду с описанными здесь гидролитическими энзимами большое значение для выяснения стереохимической конфигурации имеет синтетическое действие протеолитических ферментов (протеаз) в отношении L-аминокислот. Следует отметить в этой связи, что обычно протеазам присуща способность катализировать гидролитическое расщепление белков и синтетических пептидов до аминокислот или небольших пептидных фрагментов по схеме

$$\ldots CO{-}NHCHR^1CO{-}NHCHR^2CO{-}NH\ldots \underset{-H_2O}{\overset{+H_2O}{\rightleftarrows}}$$

$$\rightleftarrows \ldots CO{-}NHCHR^1CO_2H + NH_2CHR^2CO{-}NH$$

Хотя равновесие этой реакции сдвинуто в направлении гидролиза, а не синтеза, фермент при определенных условиях может все же заметным образом катализировать реакцию синтеза. Такое поведение фермента связано с тем обстоятельством, что образующийся в результате действия протеазы пептид оказывается настолько нерастворимым, что даже очень малое количество образующегося пептида во много раз превышает предел его растворимости. В таких случаях в заметной степени идет синтез пептида, потому что постоянно происходит выведение продукта из реакционной системы, т. е. движущая сила реакции оказывается направленной на образование и выделение нерастворимого продукта. Эти соображения были использованы Бергманом и Френкель-Конратом [323] в их классической работе 1937 г. Они инкубировали карбобензоксиаминокислоту (XXXVIII; R = $C_6H_5CH_2OCO$ —) и анилин (XXXIX; $R^2 = C_6H_5$) с папаином, активированным цистеином в подходящем буферном растворе, и наблюдали образование осадка нерастворимого анилида карбобензоксиаминокислоты (XL).



Далее, этими, а также и другими исследователями было показано, что синтетическое действие папаина и других протеаз, в том числе бромелина, фицина и химотрипсина, применимо не только к ациламинокислотам с различным строением N-ацильного остатка, но, кроме анилина, и к другим аминам (гл. 3).

Стереоспецифичность этой реакции синтеза следует из того факта, что выделяется в виде анилида преимущественно L-антипод данной аминокислоты. Существование такой антиподной специфичности привело Бергмана и Френкель-Конрата к заключению, что реакция имеет потенциальное значение для расщепления аминокислот на оптические антиподы. В своей первой публикации они описали инкубирование карбобензокси-DL-лейцина [XXXVIII; $R^1 = (CH_3)_2CHCH_2$ —] и анилина (XXXIX) с папаин-цистеином; после фильтрования осадка анилида карбобензокси-L-лейцина (XL) они выделили из фильтрата неизмененный карбобензокси-D-лейцин (XLI). После отщепления карбобензоксигруппы от этого последнего соединения каталитическим гидрогенолизом был получен D-лейцин. Хотя кислотный гидролиз выделившегося анилида может, по-видимому, привести к выделению L-лейцина, эта реакция не была описана. Однако ее описали затем другие исследователи для получения различных D- и L-аминокислот путем энзиматического синтеза анилидов. Подробно этот метод разделения аминокислот описан в гл. 3. Однако здесь важно подчеркнуть, что благодаря стереоспецифическому характеру этой реакции такой метод разделения может служить и для выяснения стереохимической конфигурации полученных антиподов аминокислот. Действительно, синтезы типа синтеза анилидов были использованы для того, чтобы приписать L-конфигурацию (—)-3-фтортирозину [324]; (+)-*трео*-β-оксинорлейцину [325], (—)-*эритро*-β-оксинорлейцину [325] и левовращающим формам *о*-, *м*- и *п*-фторфенилаланина [326].

22. Другие биологические методы. Из сказанного выше следует, что основным достоинством методов определения конфигурации с помощью

биологических агентов является их стереохимическая специфичность. Благодаря этой специфичности применение биологических методов имеет определенные преимущества по сравнению с соответствующими химическими и оптическими методами в том смысле, что они часто могут быть сведены к стандартным приемам с применением рацемических исходных веществ вместо оптически активных форм. Биологические методы, основанные на стереоспецифическом действии оксидаз аминокислот, амидаз, ацилаз и протеаз, легко выполнимы, удобны и приводят к совершенно надежным выводам, а поэтому они обычно применяются чаще по сравнению с более сложными и часто менее надежными методами, использующими метаболическое действие целого организма. Однако не следует забывать, что в природе имеется, по-видимому, неограниченное число других систем, с помощью которых также можно различить D- и L-антиподы данных α-аминокислот. Некоторые из таких систем, хотя они и имеют значительно меньшее значение для определения конфигурации, чем обсуждавшиеся ранее биологические системы, все же следует описать из-за их часто уникальных свойств.

Вкусовая проба. По-видимому, Пьютти [327] впервые указал на то, что высшие организмы обладают биохимическим механизмом, способным отличать оптические изомеры один от другого. Он отметил, что L-аспарагин является безвкусным, тогда как D-аспарагин обладает сладким вкусом. В послесловии к этой работе Пастер (это было в 1886 г.) писал, что в его

Таблица 36

Зависимость между оптической конфигурацией и вкусом [253]

Аминокислота	L-Антипод	D-Антипод
Аланин	Сладкий	Очень сладкий
α-Аминоадипиновая кислота	От пресного до горького	От пресного до сладкого
α-Аминомасляная кислота	Пресный	Сладкий
α-Аминогептановая кислота	»	Пресный
Аспарагин	От пресного до горького	Слабо сладкий
Аспарагинован кислота	Слабо горький	Пресный
Глутаминовая кислота	«Мясной»	Почти безвкусный
Глутамин	Пресный	Сладкий
Гистидин	От пресного до горького	»
Гомоглутамин	Слабо горький	»
Изолейцин	Горький	»
Лейцин	От пресного до горького	Очень сладкий
Метионин	Пресный	Сладкий
Норлейцин	Слабо горький	»
Норвалин	Горький	»
Фенилаланин	Чуть горький	»
Серин	Чуть сладкий	Очень сладкий
Треонин	» »	Сладкий
Триптофан	Пресный	Очень сладкий
Тирозин	От пресного до горького	Сладкий
Валин	От пресного до горького	Очень сладкий

ранних исследованиях по молекулярной асимметрии (примерно за 30 лет до того времени) было высказано предположение о том, что окончания вкусового нерва обладают способностью различать оптические изомеры благодаря асимметрическому характеру составляющих самой нервной ткани. Правдоподобность этого вывода была несколько позднее подтверждена Бергом [294], который сопоставил вкус большого числа аминокислот с их оптической конфигурацией. Он отметил, что почти все L-аминокислоты обладают слабым или горьким вкусом, тогда как почти все D-аминокислоты сладкие. Эти данные, дополненные Мейстером [253], приведены в табл. 36. Следует подчеркнуть, что, несмотря на отчетливую зависимость между вкусом и конфигурацией, наблюдения такого рода являются по своему характеру весьма субъективными и не могут при отсутствии более объективных данных использоваться сколько-нибудь достоверно для приписания стереохимических конфигураций.

Всасывание кишечником. Изучение усвояемости рацемических и оптически активных аминокислот изолированным или целым кишечником различных животных показало, что усвоение осуществляется механизмом переноса, действующим лишь в отношении L-аминокислот [328—334]. Поэтому, например, оказалось [328], что если раствор рацемической аминокислоты поместить в изолированную петлю тонкой кишки крысы, L-форма аминокислоты исчезает с большей скоростью, чем соответствующий D-антипод. Сходные исследования, выполненные на кошках, показали, что после введения рацемической аминокислоты в петлю кишечника в венозной крови петли отмечается высокая концентрация L-антипода, а не D-формы [329, 330]. Имеющиеся данные однозначно подтверждают, что исследования такого рода потенциально применимы для различения между D- и L-антиподами аминокислот неизвестной конфигурации.

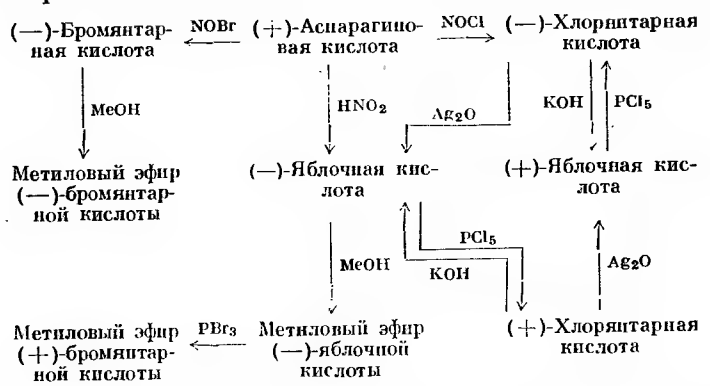
Токсичность. Определение значений LD_{50} и $LD_{99,9}$ D- и L-антиподов десяти важнейших аминокислот, которые вводились внутрибрюшинно крысам, показало, что D-изомеры всех их, за исключением аргинина, менее токсичны, чем соответствующие L-формы. Это наблюдение согласуется с тем обстоятельством, что поглощение почечными каналами организма обычно меньше для D-формы данной аминокислоты, чем для L-формы, что приводит к более легкому выделению первого из этих антиподов. Во всяком случае, эти результаты показывают, что относительная токсичность двух антиподов данной аминокислоты, по-видимому, отражает их стереохимические конфигурации.

КОРРЕЛЯЦИЯ КОНФИГУРАЦИЙ МЕЖДУ α-АМИНОКИСЛОТАМИ И ДРУГИМИ КЛАССАМИ СОЕДИНЕНИЙ

Общие соображения

23. Вальденовское обращение. В конце девятнадцатого столетия в серии классических статей, имеющих заглавие «Относительно взаимопревращений оптических антиподов», Вальден [335—338] показал, что химическое превращение оптически активного соединения в его энантиомер может быть осуществлено рядом тщательно подобранных реакций. Это выдающееся достижение приветствовалось Фишером [339] спустя примерно десять лет следующими словами: «Это наиболее поразительное наблюдение в области оптически активных соединений со времен фундаментальных исследований Пастера». Существо этого открытия может быть проиллюстрировано следую-

щим примером:



В этой схеме каждое из соединений можно рассматривать как происходящее от (+)-аспарагиновой кислоты. Так, действие азотистой кислоты на (+)-аспарагиновую кислоту приводит к (—)-яблочной кислоте, которая после этерификации метанолом и последующей обработки пятибромистым фосфором была превращена в метиловый эфир (+)-бромянтарной кислоты [338]. С другой стороны, дезаминирование (+)-аспарагиновой кислоты нитрозилбромидом и последующая этерификация образующейся (—)-бромянтарной кислоты приводит к образованию метилового эфира (—)-бромянтарной кислоты. Твердо установлено, что если химическое превращение одного соединения в другое сопровождается обменом одного из заместителей, связанных с асимметрическим атомом углерода, новый заместитель может или сохранять, или не сохранять относительное пространственное расположение заместителя, подвергшегося обмену.

Несколько более яркой иллюстрацией этого положения является действие пятихлористого фосфора на хлороформный раствор какого-либо из антиподов яблочной кислоты, приводящее к соответствующей оптически активной хлорянтарной кислоте. Последняя при обработке водной суспензией окиси серебра образует вновь яблочную кислоту, конфигурация которой, однако, противоположна конфигурации исходного соединения [335]. Таким образом, оказалось возможным осуществить циклы реакций, при которых, например, от (—)-яблочной кислоты можно вновь прийти к исходному соединению, проходя последовательно через следующие промежуточные продукты: (+)-хлорянтарную кислоту, (+)-яблочную кислоту и (—)-хлорянтарную кислоту. Для полного завершения этого цикла необходимо, чтобы дважды (при четырех стадиях процесса) происходило изменение оптической конфигурации. Такое превращение оптически активной формы в его энантиомер, при котором ни одна из стадий не связана с образованием и последующим расщеплением рацемической смеси, было названо Фишером [340] *вальденовским обращением*. Хотя это название и сохранилось до настоящего времени, его ныне чаще применяют в более узком смысле к *любой из реакций замещения, сопровождающейся изменением конфигурации, но в то же время не сопровождающейся полной рацемизацией*.

Исследования Вальдена показали, что существуют два типа реакций замещения при асимметрическом атоме углерода — реакции, происходящие с сохранением конфигурации, и реакции, при которых конфигурация изменяется. Наличие оптической инверсии в ходе двух или более реакций можно, естественно, лучше всего установить, если эти реакции приводят к продукту *того же самого химического строения*, что и исходное вещество, но *противоположной конфигурации*. Однако хотя этот способ позволяет легко установить наличие полной инверсии в данной последовательности реакций, с его помощью нельзя выяснить, при какой именно реакции (или реакциях) происходит оптическая инверсия. Нельзя получить также сведений относительно того, как, почему и в каких условиях происходит изменение конфигурации.

Фишер и сотрудники [340—348] пытались внести ясность в указанную выше проблему, предприняв серию исследований, посвященных вальденовскому обращению в ряду аминокислот. Ранее было показано, что действие бромистого нитрозила на какой-либо из стереомеров аланина превращает его в оптически активную α-бромпропионовую кислоту, которая после обработки аммиаком дает изомер аланина энантиоморфный исходному [341], т. е.

$$(+)\text{-Аланин} \xrightarrow{NOBr} (-)\text{-}\alpha\text{-Бромпропионовая кислота} \xrightarrow{NH_3} (-)\text{-Аланин.}$$

Хотя одна из двух реакций замещения сопровождается изменением конфигурации, невозможно выявить именно ту, в ходе которой происходит это изменение. Аналогичное исследование, проведенное с лейцином [343] и фенилаланином [348], привело к той же ситуации. Однако такое поведение не является общим, поскольку, например, последовательная обработка (+)-валина бромистым нитрозилом и затем аммиаком не приводит к образованию ожидаемого энантиомера, а регенерируется исходная аминокислота [342], т. е.

$$(+)\text{-Валин} \xrightarrow{NOBr} (-)\text{-}\alpha\text{-Бромизовалериановая кислота} \xrightarrow{NH_3} (+)\text{-Валин.}$$

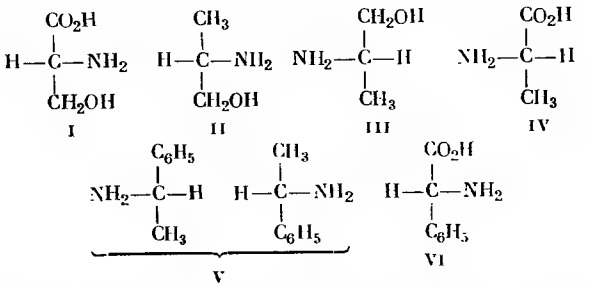
Поскольку полного изменения оптической конфигурации не наблюдалось, можно было считать, что в ходе каждой из двух реакций инверсия либо происходит, либо ее вовсе не происходит. Это сложное положение не прояснилось открытием Фишера и других, что инверсия или сохранение конфигурации при реакции замещения зависят от таких факторов, как природа реагентов или растворителей, структура реагирующего вещества и условия опыта, например температура. Так, действие раствора аммиака в *н*-гептане или в воде на (—)-хлорфенилуксусную кислоту приводит к (+)-α-фенилглицину, а энантиомерный (—)-α-фенилглицин образуется либо при проведении реакции в жидком аммиаке, либо при использовании в качестве растворителя ацетонитрила [349]. Здесь природа растворителя играет решающую роль в направлении стереохимических превращений, хотя сам растворитель не принимает участия в реакции. Затруднения, с которыми столкнулись первые исследователи, были хорошо показаны в обзоре Вальдена, сделанном в 1919 г. [350], где он привел более 20 схем превращений, в которых уклончиво обходились доказательства происходивших при этом одной или более оптических инверсий.

К 1920 г. было затрачено много усилий на интенсивные, но бесполезные поиски адекватного объяснения природы, механизма и стереохимического течения реакций замещения. К концу этого периода были разработаны различные методы установления конфигурационных зависимостей между продуктом реакции замещения и исходным оптически активным соединением. Хотя исследования Фрейденберга и Рино [351] в 1924 г. позволили создать довольно удобный способ определения стереохимической зависимости между α-аминокислотами, с одной стороны, и α-оксикислотами — с другой, косвенный подход этих исследователей к проблеме привел к выводам,

которые следует в лучшем случае рассматривать как приближенные. Лишь в 1950 г. с применением кинетических методов и благодаря этому с выяснением механизма и стереохимии реакций замещения удалось установить корреляции конфигураций между α-амино-, α-окси- и α-галогенокислотами[12].

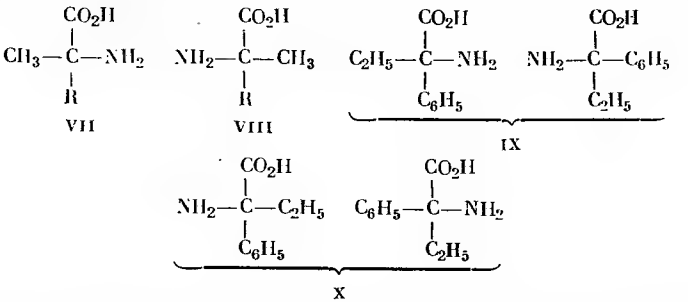
24. Влияние структурных изменений на конфигурацию. Выше мы ограничились главным образом обсуждением методов определения конфигурационных отношений между α-асимметрическими центрами аминокислот типа $H_2NCHR \cdot CO_2H$. Эти соединения (или их функциональные производные) можно однозначно сравнивать стереохимически благодаря тому, что они имеют три общих для всех их заместителя (H, NH_2 и CO_2H) у α-асимметрического атома углерода, а также боковую цепь (R), различную для разных аминокислот. На основании пространственного расположения этих заместителей каждому соединению можно приписать D- или L-конфигурацию и представить их соответствующими фишеровскими проекциями (раздел 3). Однако если наряду с R изменяется и другой заместитель у α-асимметрического атома углерода, то иногда при обозначении конфигурации могут возникнуть неопределенности. Имея это в виду, мы приведем данные о стереохимических зависимостях между α-аминокислотами и сходными соединениями, в которых новый заместитель занимает то же положение, которое ранее занимали α-карбоксил, α-атом водорода или α-аминогруппа.

Изменения карбоксильной группировки. Жесткое химическое изменение α-карбоксильной группы α-аминокислоты может иногда привести к образованию соединений, отнесение которых к D- или L-ряду становится в сущности невозможным. Так, например, поскольку все три заместителя у α-атома D-серина (I) и три заместителя одного из энантиомеров 2-аминопропанола (II) являются идентичными и расположены в пространстве одинаковым образом, можно было бы предположить, что последнее соединение, как и первое, имеет ту же D-конфигурацию. Однако этот вывод является неправильным, поскольку (+)-2-аминопропанол-1 (III) можно получить восстановлением L-аланина (IV) без разрыва связей, образуемых α-асимметрическим центром [352]; применяя правило перестановки (раздел 3), можно показать, что соединения II и III конфигурационно эквивалентны.



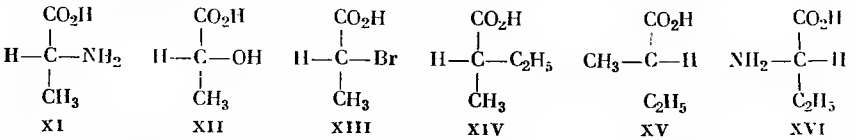
Таким образом, возникает дилемма: какую конфигурацию приписать (+)-2-аминопропанолу-1 — D или L. Эту дилемму можно разрешить, приняв соответствующие правила, регулирующие относительные положения различных заместителей. Для указанного случая было предложено [97] считать, что заместитель с наивысшей степенью окисления образовался из карбоксильной группы аминокислоты. На этом основании (+)-2-аминопропанолу-1 следует приписать L-конфигурацию. Однако далеко распространять подобные аналогии не следует. Так, (—)-α-фенилэтиламин (V) можно получить из L-аланина (IV) или из D-α-фенилглицина (VI) (раздел 8), и, по-видимому, данных для отнесения его к D- или к L-ряду недостаточно.

Изменение α-атома водорода. Уже указывалось на то обстоятельство, что обозначения конфигурации каждого из антиподов α-метил-α-аминокислот (VII) и (VIII) можно сделать на основании их поведения по отношению к биологическим системам с известной оптической специфичностью (раздел 11). Поскольку считается, что α-метильная группа в этом случае занимает место, ранее принадлежавшее α-атому водорода, соединениям VII и VIII приписывают соответственно D- и L-конфигурации. Однако в том случае,



когда в молекуле вместо атома водорода имеется другой (не CH_3-группа) алкильный или арильный заместитель, как, например, в α-этил-α-фениламиноуксусной кислоте, конфигурационные обозначения той или другой оптической формы (IX и X) становятся весьма неопределенными, поскольку ни D-, ни L-формы таких соединений нельзя отличить по их биологическому или физико-химическому поведению.

Замещение α-аминогруппировки. α-Аминокислоту можно химически превратить в соответствующую α-бром- или α-оксикислоту обработкой подходящими реагентами, например нитрозилбромидом или азотистой кислотой. Если принять, что замещение происходит без изменения относительного пространственного расположения других заместителей вокруг α-асимметрического атома углерода, получающемуся продукту следует приписать ту же конфигурацию, что и исходной аминокислоте. Так, например, α-амино-, α-окси- и α-бромзаместители соответственно в D-аланине (XI), D-молочной кислоте (XII) и D-α-бромпропионовой кислоте (XIII) занимают одинаковые относительные положения на фишеровских проекциях, тогда как три другие заместителя у каждого из асимметрических центров химически и пространственно эквивалентны. Следовательно, всякое соединение конфигурационно эквивалентное одному из вышеприведенных соединений будет, в то же время эквивалентно и двум другим.



В этой связи важно отметить, что фишеровскую проекцию (+)-α-метилмасляной кислоты можно изображать или как XIV, или как XV, поскольку абсолютная конфигурация этого соединения известна [353, 354]. Три группы, связанные с α-атомом углерода в XIV и XV, химически и пространствен-

Таблица 37

Молекулярное вращение различных производных (+)-аланина и (+)-молочной кислоты[a] [351]

Производное	(+)-Аланин					(+)-Молочная кислота				
	растворитель	$[M]_{649}$	$[M]_{578}$	$[M]_{546}$	$[M]_{444}$	растворитель	$[M]_{649}$	$[M]_{578}$	$[M]_{546}$	$[M]_{444}$
Амид бензоилпроизводного	Муравьиная кислота	+68	+85	+95	—	Муравьиная кислота	+93	+120	+138	—259
Этиловый эфир бензоилпроизводного	Тетрахлорэтан	+30	+39	+45	+93	Тетрахлорэтан	—	+16	+27	—
	Пиридин	+8	+11	+14	+35	—	+35	+49	+60	+136
Метиловый эфир бензоилпроизводного	Тетрахлорэтан	—	+4	+4	—	—	+25	+36	+44	+96
	Пиридин	—2	—3	—3	—	—	—	—	—	—
Этиловый эфир гексагидробензоилпроизводного	Тетрахлорэтан	—34	—43	—49	—85	—	—35	—43	—48	—76
	Этанол	—68	—86	—99	—	—	—	—	—	—
Амид толуолсульфонилпроизводного	Пиридин	—33	—44	—51	—75	Пиридин	—68	—87	—101	—165
Этиловый эфир ацетилпроизводного	—	—57	—74	—84	—145	—	—58	—72	—81	—123
Этиловый эфир толуолсульфонилпроизводного	Этанол	—62	—78	—87	—142	—	—88	—109	—123	—214
	Тетрахлорэтан	—22	—26	—29	—34	—	—	—	—	—

[a] При применении растворителя значения молекулярного вращения приведены лишь для наиболее концентрированных растворов. Температура измерений 18—21°. Данные приведены в градусах.

но идентичны соответствующим группам в D-аланине (XI) и в L-бутирине (XVI). Однако на основании биологического поведения по отношению к системе с известной антиподной специфичностью (+)-α-метилмасляной кислоте можно приписать L-конфигурацию [355]. Строение этого соединения, таким образом, лучше согласуется с формулой XV, поскольку положение, эквивалентное положению аминогруппы в α-аминокислоте, занимает его α-метильная группа, а не α-этильная группа в формуле XIV.

Используемые методы

25. Правило сдвига. Основываясь на своих предшествующих наблюдениях, Фрейденберг в 1933 г. сформулировал правило, согласно которому *при однотипном замещении двух сходно построенных асимметрических молекул сдвиг молекулярного вращения имеет одинаковое направление и часто сходен по величине. Это правило обычно называют правилом сдвига* (Verschiebungssatz) *или правилом смещения.* Впервые его применение было описано в 1924 г. Фрейденбергом и Рино [351], которые на основе оптического поведения различных производных (+)-аланина и (+)-молочной кислоты пришли к заключению, что эти соединения конфигурационно эквивалентны. Производные, изученные этими авторами, приведены в табл. 37 в порядке возрастания величины отрицательного вращения. Поскольку однотипное замещение в обоих соединениях более или менее постоянно сопровождается одинаковыми изменениями направления вращения, вывод о том, что оба ряда веществ имеют одинаковую конфигурацию, является достаточно убедительным. Однако следует отметить, что во многих случаях нельзя было учесть влияние растворителя, вследствие чего результаты могли быть легко обесценены. То, что авторы действительно отдавали себе отчет в этих трудностях, подчеркивалось в следующем году Фрейденбергом и Ноэ [357]. В этой работе они показали, что в отсутствие растворителя значение $[M]^{20}_{578}$ для диэтилового эфира N-*п*-толуолсульфонил-L-аспарагиновой кислоты равно +37,5°, тогда как примерно 25%-ные растворы этого соединения в пиридине, муравьиной кислоте и *симм*-тетрахлорэтане вращают соответственно —60,7, +9,6 и +96,6°. Может быть, наиболее типичным из исследованных

Таблица 38

Молекулярное вращение (в градусах) различных производных (+)-аспарагиновой и (—)-яблочной кислот[a] [357]

Диэтиловый эфир	(+) Аспарагиновая кислота		(—)-Яблочная кислота	
	20° C	100° C	20° C	100° C
Циннамоилпроизводного	+25	+20	+7	—13
Бензоилпроизводного	—	+12	—12	—28
Формилпроизводного	—0,3	—13	—56	—58
Гидроциннамоилпроизводного	—18	—9	—56	—68
Ацетилпроизводного	—21	—18	—53	—68
н-Гептилпроизводного	—46	—20	—60	—70
Этансульфонилпроизводного	—29	—31	—105	—101
п-Толуолсульфонилпроизводного	+37	—36	—104	—101

[a] Все измерения приводились в отсутствие растворителя.

примеров такого рода являются значения $[M]_{578}$ различных производных (+)-аспаргиновой и (—)-яблочной кислот при температурах 20 и 100°. Эти данные приведены в табл. 38 [357]. Хотя здесь и наблюдаются некоторые противоречия, в общем параллелизм данных (особенно при 100°) показывает, что обе серии веществ обладают идентичной конфигурацией.

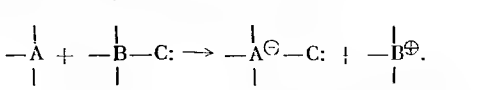
Суммируя вышесказанное, можно отметить, что хотя правило сдвигов не является во всех случаях абсолютно точным, устанавливаемые с его помощью конфигурации обычно соответствуют конфигурациям, приписанным с помощью других методов. Однако его непосредственное применение требует соблюдения ряда предосторожностей. Так, сравниваемые соединения не только должны иметь сходную структуру, но и должен быть сделан также правильный выбор растворителей и производных с целью свести к минимуму вторичные эффекты, возникающие благодаря ассоциации и диссоциации. В целом метод следует отнести к наиболее удобным и при правильном применении достаточно надежным.

26. Кинетические методы. Инверсия или сохранение конфигурации асимметрического атома углерода при химическом замещении одной из групп на другую обусловлены механизмом протекающей реакции. В этой связи целесообразно использовать для выяснения механизма данной реакции кинетические методы исследования и, таким образом, выявить ее стереохимическое направление. Это наиболее надежный способ установления стереохимической зависимости между различными классами соединений. И, действительно, он используется для достоверной корреляции α-аминокислот, α-оксикислот и α-галогенокислот. Это направление кинетических исследований и будет в первую очередь предметом дальнейшего обсуждения.

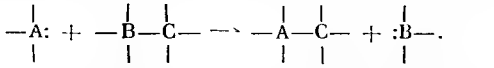
Нуклеофильное замещение. В общем виде реакция замещения

$$A + BC \longrightarrow AC + B$$

может происходить по одному из двух разных ионных механизмов, в зависимости от электронной структуры реагентов A и BC. Если A представляет собой реагент, который в наивысшей валентности может связывать свободную пару электронов, предоставляемую C, то взаимодействие этих двух реагентов происходит с образованием ковалентной связи A—C и выделением положительной частицы B.

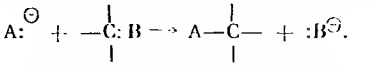


Этот процесс обычно называют электрофильным замещением и обозначают S_E. Однако если A является реагентом, содержащим по крайней мере одну свободную пару, то может происходить атака на C с образованием ковалентной связи между A и C и с одновременным отщеплением содержащей свободную пару электронов группировки B. Этот процесс обычно называют реакцией нуклеофильного замещения или S_N-реакцией.



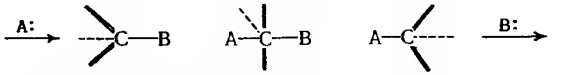
Нуклеофильное замещение атома углерода может протекать одним из следующих двух альтернативных способов или одновременно обоими способами.

а) Атака нуклеофильного агента $A:^{\ominus}$ может быть направлена на ядро C реагента B : C следующим образом:

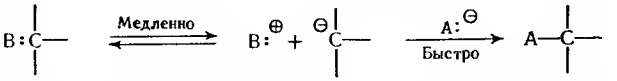


Поскольку скорость этой реакции пропорциональна концентрации обоих реагентов, процесс кинетически имеет второй порядок и обозначается как бимолекулярное нуклеофильное замещение или S_N 2-реакция.

Многочисленные кинетические исследования привели к достаточно обоснованному выводу, что S_N 2-реакция протекает путем атаки $A:^{\ominus}$ на атом углерода со стороны противоположной связи этого атома с B. Стереохимическое течение реакции просто и кратко выражается S_N2-*правилом* [358]: *Замещение по механизму S_N2 связано с инверсией конфигурации независимо от любых особенностей строения молекулы.* Вследствие этого поведение связей, окружающих асимметрический атом углерода, образно описывают как «выворачивание наизнанку, подобно ребрам зонтика во время ветра» [359]. Механизм этого процесса может быть изображен следующим образом:



б) Если реагент B : C претерпевает предварительную медленную диссоциацию на $B:^{\ominus}$ и $C^{\oplus}$ и затем $A:^{\ominus}$ быстро реагирует с последним из образовавшихся ионов, то реакцию можно представить таким образом:



Поскольку первая стадия этого процесса определяет его скорость, то скорость суммарной реакции прямо пропорциональна концентрации B : C. Следовательно, кинетически эта реакция является реакцией первого порядка и обозначается как *мономолекулярное нуклеофильное замещение или S_N1-реакция.* Стереохимическое течение реакций этого типа описывается S_N1-*правилом* [358, 360]: *Реакции, идущие по механизму S_N1 и включающие образование карбониевого иона, сопровождаются рацемизацией обычно с преобладанием инвертированной формы, если только нет стабилизирующих групп, например α-карбоксилат-иона, присутствие которых обычно препятствует изменению конфигурации.* Это правило, по-видимому, общеприменимо, если не считать случая, когда антиподы α-фенилглицина претерпевают вальденовское обращение при дезаминировании азотистой кислотой до миндальной кислоты, что было выяснено кинетическими исследованиями [358], а также доказано путем химических превращений [361].

Оба вышеприведенных правила нуклеофильного замещения дают очень общий и надежный способ корреляции конфигураций между различными классами соединений, образующихся путем замещения при данном асимметрическом атоме углерода одного из заместителей другим. При применении этих правил главной экспериментальной трудностью является кинетическое доказательство того, что нуклеофильное замещение идет по S_N1- или S_N2-механизму. Многочисленные стереохимические корреляции между α-ами-

но-, α-галоидо- и α-оксикислотами установлены именно путем выяснения механизма реакции. С целью облегчить дальнейшее обсуждение этих вопросов в табл. 39 воспроизведены данные Ингольда [358] по некоторым из таких

Таблица 39

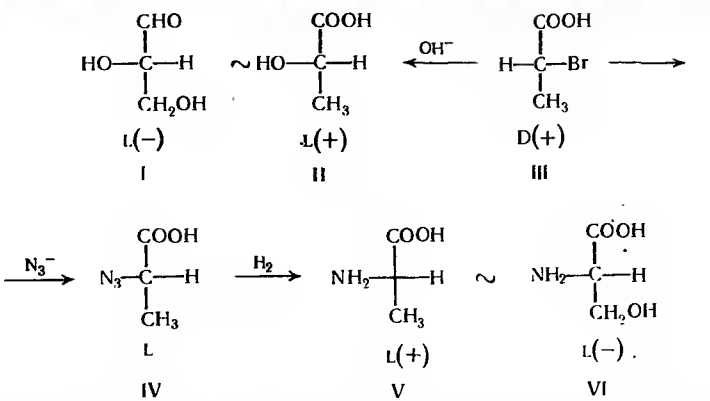
Знаки вращения соединений, имеющих сходную конфигурацию и отличающихся лишь группой X (ср. с работой [358])

Соединение	X			
	Cl	Br	OH	NH_2
CH_3CHXCO_2H	+	+	—	—
изо-$C_3H_7CHXCO_2H$		+	—	—
изо-$C_4H_9CHXCO_2H$		+	+	+
$C_6H_5CH_2CHXCO_2H$	+	+	+	+
$CO_2HCH_2CHXCO_2H$	+	+	+	—
$CO_2H(CH_2)_2CHXCO_2H$	+		+	—

корреляций. Каждая строка в этой таблице охватывает серию соединений, обладающих эквивалентной конфигурацией, причем приведены знаки их вращения в воде.

Корреляция серина и глицеринового альдегида. Впервые однозначное доказательство конфигурационной зависимости между α-аминокислотой, с одной стороны, и α-бром- или α-оксикислотой — с другой, было получено Брюстером, Хьюзом, Ингольдом и Рао [8] в 1950 г. Эта корреляция была осуществлена замещением галоида в (+)-α-бромпропионовой кислоте (III) азид-ионом в кинетически контролируемых условиях, причем было установлено, что реакция идет по механизму биомолекулярного нуклеофильного замещения. Последующее восстановление α-азидопроизводного (IV) с помощью платинового катализатора привело к (+)-аланину (V). Ввиду того что первая стадия этого превращения протекает с вальденовским обращением, как это и должно быть, согласно S_N2-правилу, а на второй стадии конфигурация сохраняется, так как не затрагиваются связи асимметрического центра, суммарный результат превращения заключается в инверсии конфигурации. Определение оптического вращения полученного этим способом (+)-аланина позволило установить искомую корреляцию. Другими словами, изомеры α-бромпропионовой кислоты и аланина, имеющие разные знаки оптического вращения в воде, оказались обладающими одинаковой конфигурацией. Поскольку ранее Каудри, Хьюз и Ингольд [12] доказали, что (+)-α-бромпропионовую кислоту (III) можно превратить в (+)-молочную кислоту (II), кинетически контролируемой S_N2-реакцией аниона первой из них с гидроксил-ионом, вышеприведенные конфигурационные зависимости позволили сделать вывод о конфигурационной эквивалентности изомеров молочной кислоты и аланина, обладающих в водных растворах одинаковыми знаками оптического вращения. Эта корреляция устанавливает прямую связь между L-(—)-серином (VI) (стандартом конфигураций в ряду аминокислот) и D-(+)-глицериновым альдегидом (стандартом в ряду углеводов), так как классическими методами аланин (V) был уже сведен к серину (VI) (раздел 7), а молочная кислота (II)— к глицериновому альдегиду (I) (раз-

дел 4). Полностью весь процесс можно изобразить следующим образом:



α-Оксикислоты. Следствием конфигурационной эквивалентности (+)-молочной кислоты и (+)-аланина является то, что любое соединение, стереохимически связанное с одним из этих веществ, оказывается связанным также и с другим. Так, благодаря установленной ранее оптической зависимости между рядом α-оксикислот и (+)-молочной кислотой можно провести корреляцию между этими соединениями и (+)-аланином. Для этого здесь можно использовать эмпирическое *правило Клафа*, согласно которому все α-оксикислоты, обладающие параллельными сдвигами оптического вращения, конфигурационно подобны [102]. В данном случае это правило можно выразить следующим образом: *изомер моноасимметрической α-оксикислоты, вращение которого сдвигается вправо при добавлении кислоты к водному раствору его соли с металлом, обладает* L-*конфигурацией, тогда как сдвиг оптического вращения влево характерен для* D-*изомера*. Это можно записать также в виде:

$$\text{L-α-оксикислота: } [\alpha]_{\text{кислота}} - [\alpha]_{\text{соль}} = +\Delta[\alpha],$$

$$\text{D-α-оксикислота: } [\alpha]_{\text{кислота}} - [\alpha]_{\text{соль}} = -\Delta[\alpha].$$

Указанное правило аналогично упоминавшемуся *правилу Клафа — Луца — Иргенсонса* для моноасимметрических α-аминокислот (раздел 11) и, по-видимому, обусловлено ионизацией карбоксильной группы. Из данных табл. 40 ясно видна применимость его к моноасимметрическим α-оксикислотам [140]. Использованные здесь α-оксикислоты были получены дезаминированием азотистой кислотой соответствующих L- или D-аминокислот. Поскольку кинетические исследования [360] показали, что такое дезаминирование протекает по S_N1-механизму, причем из-за стабилизирующего влияния α-карбоксилат-иона не происходит ни инверсии, ни заметной рацемизации, обоснованность *правила Клафа* получает дополнительное подтверждение. Для применения этого эмпирического правила к α-оксикислотам, содержащим два центра асимметрии, следует использовать соображения, аналогичные высказанным ранее при обсуждении *правила парциальных сдвигов вращения* (раздел 11). Они были применены для определения α-конфигурации каждого из четырех изомеров изолимонной кислоты (раздел 36).

α-Бромкислоты. Выше уже упоминалось (раздел 23), что оптически активную α-аминокислоту (VII) можно превратить в ее антипод (IX); сначала

Таблица 40

Удельное вращение (в градусах) водных растворов α-оксикислот в виде их солей и свободных кислот [140]

α-Оксикислоты	Исходная аминокислота	$[\alpha]_D$ L-α-Оксикислоты [а]			$[\alpha]_D$ D-α-Оксикислоты [а]		
		соль	свободная кислота [б]	$[\alpha]_{кисл}-[\alpha]_{соль}$	соль	свободная кислота [б]	$[\alpha]_{кисл}-[\alpha]_{соль}$
Молочная [в]	Аланин	9,8	0	+9,8	—	—	—
α-Окси-*н*-масляная [г]	Аминомасляная кислота	−9,1	−6,8	+2,3	+8,8	+6,0	−2,8
α-Окси-*н*-валериановая [г]	Норвалин	−7,0	−2,7	+4,3	+7,2	+2,2	−5,0
α-Окси-*н*-капроновая [д]	Норлейцин	15,9	−4,2	+11,7	+15,5	+3,8	−11,7
α-Оксиизовалериановая [д]	Валин	−15,2	−1,0	+14,2	+15,2	+1,0	−14,2
α-Оксиизокапроновая [д]	Лейцин	−22,8	−13,3	+9,5	+22,8	+13,3	−9,5
α-Окси-β-фенилпропионовая [е]	Фенилаланин	−54,2	−20,0	+34,2	+54,4	+20,4	−34,0
Яблочная [г]	Аспарагиновая кислота	0	0	—	0	0	—
α-Оксиглутаровая [г]	Глутаминовая кислота	−5,3	0	+5,3	+5,1	0	−5,1

[а] 1—5%-ный раствор в трубке длиной 2 *дм* при 25—27°.

[б] Получена нейтрализацией соответствующей соли эквивалентным количеством соляной кислоты.

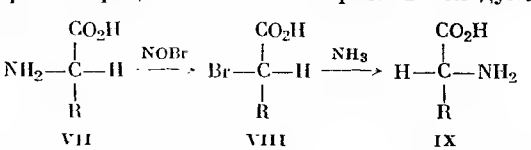
[в] Zn-соль.

[г] Ba-соль.

[д] Ba-соль.

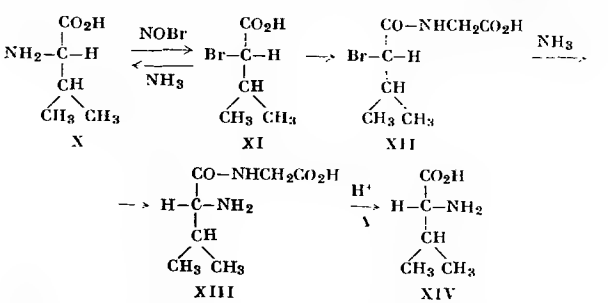
[е] Использована свободная кислота и для образования натриевой соли добавлен 1 экв. едкого натра.

ее обрабатывают нитрозилбромидом, а затем полученную α-бромкислоту (VIII) действием аммиака переводят в антипод (IX). Хотя вначале исследователям не удавалось показать, на какой из двух стадий этого превращения происходит вальденовское обращение, позднейшие кинетические исследования [360, 361] убедительно доказали, что первая стадия, т. е. превращение данного антипода α-аминокислоты в соответствующую α-галогенкислоту, протекает по S_N1-механизму с сохранением конфигурации вследствие стабилизирующего влияния α-карбоксиплатиона. Поэтому инверсию конфигурации следует связывать со стадией аминирования α-галогенкислоты. Суммарный процесс можно изобразить следующим образом:

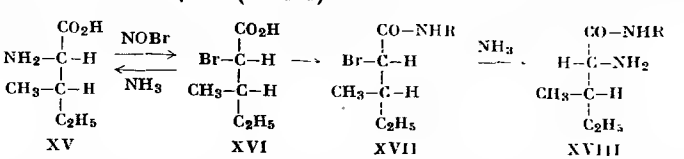


Эта схема реакции была использована для превращения антиподов аланина [341], аспарагиновой кислоты [335, 338], лейцина [343], ε-бензоилизилизина [254, 362], метионина [363], δ-бензоилорнитина [363] и фенилаланина [348], а также других аминокислот в соответствующие оптические энантиомеры. Следует отметить, что только в соединениях, содержащих атом водорода, связанный с α-асимметрическим центром, дезаминирование α-аминокислоты в α-галогенкислоту с помощью галогенного нитрозила происходит без вальденовского обращения и без заметной рацемизации. Поэтому, например, продукт получающийся при обработке (+)-α-амино-α-метилмасляной кислоты (изовалина) бромистым нитрозилом, почти полностью рацемизован [364]. Значительная рацемизация наблюдается также в том случае, если эту реакцию проводить с α-аминокислотами, содержащими фенильную группу в α-положении, т. е. с α-аминофенилуксусной кислотой [365].

Следует вспомнить, что попытка Фишера и Шейблера [342] «инвертировать» L-валин (X) привела к продукту, обладающему той же конфигурацией, что и исходная аминокислота. В отличие от только что рассмотренной ситуации аминирование оптически активного промежуточного продукта — (—)-α-бромизовалериановой кислоты (XI)— происходит здесь с сохранением конфигурации. Однако если эту же α-бромкислоту сначала превратить в соответствующий α-бромизовалерилглицин (XII) и последний далее обработать аммиаком, то оказывается, что образующийся валилглицин (XIII) обладает D-конфигурацией. Это было показано выделением D-валина (XIV) в результате гидролиза соединения XIII. Поскольку превращение L-валина (X) в (—)-α-бромизовалериановую кислоту (XI) происходит с сохранением конфигурации, а превращение α-галогенкислоты в (—)-α-бромизовалерилглицин (XII) не затрагивает связей α-асимметрического центра, то вальденовское обращение должно иметь место на стадии аминирования соединения XII. Абдергальден и его сотрудники [366, 367] показали, что поведение изолейцина сходно с поведением валина. Эти исследователи не наблюдали вальденовского обращения при аминировании антипода α-бром-β-метилвалериановой кислоты (XVI), образующегося из L-изолейцина (XV).



Однако при обработке NH_3 производного бромкислоты XVII образуется производное D-*алло*-изолейцина (XVIII).

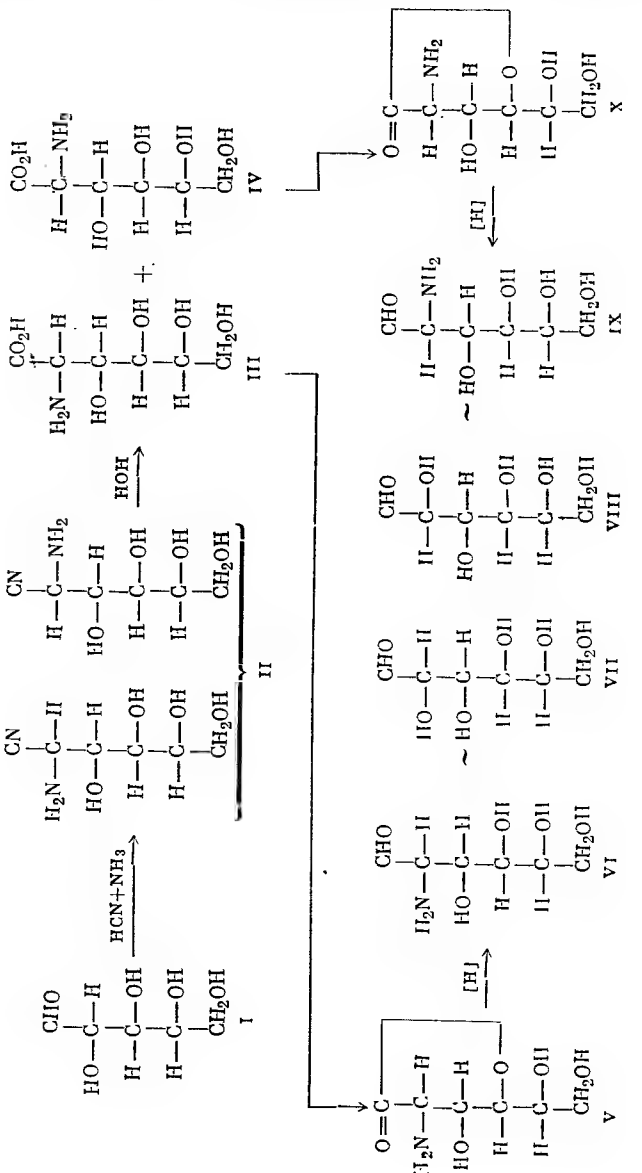


По-видимому, заслуживает внимания то обстоятельство, что поведение *трет*-лейцина $(CH_3)_3CCH(NH_2)CO_2H$ сходно с поведением валина и изолейцина: превращение аминокислота →α-бромкислота→аминокислота осуществляется без существенного изменения оптической конфигурации [368].

Согласно Нейбергеру [97], это явление может быть объяснено следующим образом. Аминирование алифатических α-бромкислот, у которых разветвление боковой цепи начинается в точке, удаленной от α-асимметрического центра, протекает по бимолекулярному нуклеофильному механизму и сопровождается инверсией конфигурации. Однако у тех α-бромкислот, у которых разветвленный алкильный заместитель соседствует с α-атомом углерода, замещение по бимолекулярному механизму полностью исключается из-за стерического влияния алкильной группы, а также из-за полярного влияния как алкильной группы, так и карбоксила. Вследствие повышенной ионизации, возникающей в связи с полярными эффектами в молекулах этого типа, мономолекулярная реакция замещения, обычно не идущая по стерическим причинам, в этом случае облегчена. Поэтому у таких соединений не наблюдается инверсии конфигурации. Однако использование амидов или производных пептидов для блокирования карбоксильной группы вызывает индукционный эффект, направленный в противоположную сторону, по сравнению с эффектом карбоксила в незамещенной кислоте. Притяжение электронов реакционным центром, которое возникает в результате сильного индукционного эффекта амидной группы, снижает противоположное стерическое влияние алкильных заместителей, что приводит к возрастанию скорости бимолекулярного замещения и одновременно подавляет мономолекулярный механизм. Поэтому при аминировании амидных производных α-галоид-β-алкилалифатических кислот следует ожидать инверсии.

Следует отметить, что Пфистер и его сотрудники [369] использовали классический метод дезаминирования с помощью бромистого нитрозила для превращения обеих рацемических форм О-метилтреонина в соответствующие α-бромкислоты. В согласии с вышеприведенной концепцией они не наблюдали инверсии при последующем аминировании этих бромкислот. Однако инверсию можно осуществить, если действовать аммиаком на амидные производные тех же α-бромкислот. Раньше такое же явление наблюдалось для валина, изолейцина и *трет*-лейцина. Сходное поведение О-метилтреонина и этих аминокислот, по-видимому, следует отнести за счет наличия у всех их β-боковой цепи.

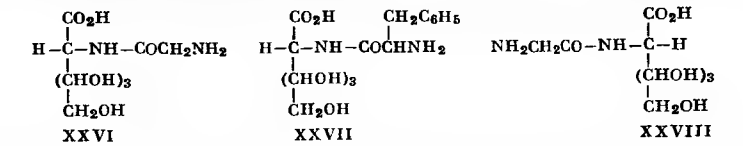
27. Химические превращения 2-аминосахаров. По-видимому, наиболее однозначная система доказательств, на которых основаны стереохимические соотношения между α-аминокислотами и углеводами, заключается в корреляции D-глюкозамина с D-глюкозой и D-аланином. Глюкозамин — природная 2-аминогексоза с известной конфигурацией атомов углерода в положениях 3, 4 и 5. Конфигурации глюкозамина были выяснены путем его синтеза из соответствующей пентозы. Этот синтез успешно осуществили в 1903 г. Фишер и Лёйхс [370], которые обработкой D-арабинозы (I) аммиаком и цианистым водородом получили аминонитрил (II), который гидролизом превращали в смесь эпимеров «глюкозаминовой кислоты». Из этой смеси фракционированием выделяли два эпимера (III и IV), из которых получали соответствующие лактоны (V и X). Наконец, последние восстанавливали в 2-аминогексозы (VI и IX). В зависимости от конфигурации C_2-атома аминосахара стереохимически относятся или к типу D-маннозы (VII), или к типу D-глюкозы (VIII). Хотя метод синтеза, примененный Фишером, не давал доказательства конфигурации при C_2-атоме в полученных им 2-аминогексозах (VI и IX), поставленная проблема могла тем не менее быть решена, если одно или другое из этих соединений стереохимически коррелируется с обеими соответствующими им гексозами (VII или VIII) и α-аминокислотой известной конфигурации.



Определение конфигурационных соотношений между D-глюкозой и D-глюкозамином основано в первую очередь на принципе, согласно которому размыкание эпоксидного кольца, принадлежащего уже другой циклической системе, всегда происходит по бимолекулярному нуклеофильному механизму и поэтому сопровождается вальденовским обращением в месте разрыва связи (ср. с работой [371]). Следует отметить также, что размыкание эпоксидного цикла в ангидросахарах действием щелочи или аммиака происходит с образованием двух изомерных сахаров вследствие независимого разрыва каждой из связей, образованных окисным атомом кислорода. В каждом случае имеет место инверсия оптической конфигурации при том атоме углерода эпоксидного цикла, связь с которым разрывается. Если в качестве агента применяют метилат натрия или аммиак, с инвертируемым атомом углерода связывается соответственно метокси- или аминогруппа. Поэтому (см. рис. 6) разрыв эпоксидного цикла диметил-2,3-ангидро-β-метилманнозида (XI) при действии метилата натрия может происходить у C_2 или C_3 с образованием смеси 2,4,6-триметил-β-метилглюкозида (XIV) и 3,4,6-триметил-β-метилальтрозида (XV), которые можно разделить фракционированием [372]. Сходное расщепление XI с использованием в качестве нуклеофильного агента вместо метилата натрия аммиака приводит к сиропу, который при обработке уксусным ангидридом дает две кристаллические фракции, идентифицированные как 4,6-диметил-2-ацетамидо-β-метилглюкозид (XII) и 4,6-диметил-ацетамидо-β-метилальтрозид (XIII) [373]. Поскольку разрыв окисного цикла в соединении XI при действии метилата натрия или аммиака в обоих случаях происходит по S_N2-механизму, соединения XII и XIV должны быть конфигурационно подобны соединениям XIII и XV. Основываясь на таких корреляциях, Хаворту, Лейку и Питу [373] в 1939 г. удалось доказать стереохимическую эквивалентность соответствующих антиподов глюкозы и глюкозамина. Так, соединение IV было получено ранее из D-глюкозы (ср. с работой [374]), а метилирование соединения XII приводит к соединению XVII, идентичному тому, который получен последовательным ацилированием и метилированием D-глюкозамина [375]. Эти выводы подтверждены в том же году рентгеноструктурными измерениями, проведенными Коксом и Джефри [376]. Они установили пиранозидную структуру глюкозамина и выяснили относительное пространственное расположение заместителей в цикле. Сочетание этих химических и физических методов позволило прийти к выводу, что природный глюкозамин относится к ряду D-глюкозы, а не D-маннозы.

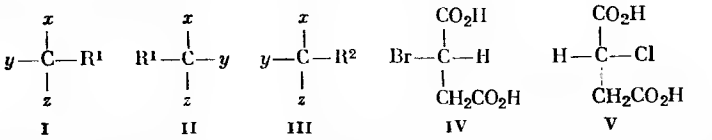
Природный глюкозамин можно окислить в D-глюкозаминовую кислоту без изменения конфигурации какого-либо из его асимметрических атомов углерода. В 1925 г. Левен [377] установил, что D-глюкозаминовая кислота проявляет свойства, типичные для аминокислот, а почти семь лет спустя Луц и Иргенсонс [378] подтвердили этот факт, показав, что при добавлении кислоты к ее водному раствору наблюдается отрицательный сдвиг оптического вращения. Хотя эти выводы были в дальнейшем признаны правильными, они основаны в первую очередь на наблюдаемом изменении полной вращательной способности молекулы — явлении, которое позднейшими опытами было признано неприменимым для соединений, содержащих два асимметрических центра (раздел 11). Поэтому первым строгим доказательством конфигурации при C_2-атоме D-глюкозаминовой кислоты (IV) следует считать доказательство, данное Бергманом, Зервасом, Ринке и Шлейхом [379], которые в 1934 г. показали, что глицил- и L-фенилаланил D-глюкозаминовые кислоты (XXVI и XXVII) устойчивы к стереоспецифическому гидролитическому действию кишечной дипептидазы, но глицил-D-эпиглюкозаминовая кислота (XXVIII) легко гидролизуется этим ферментом.

Поскольку этот фермент действует на L-аминокислоты, эти опыты показывают, что C_2-атом глюкозаминовой кислоты обладает D-конфигурацией. Независимое подтверждение этого вывода получено в 1937 г. Каррером



и Майером [380], а также Пфейффером и Христлейтом [381] на основании сходства кривых дисперсии оптического вращения медных комплексов D-глюкозаминовой кислоты и других D-аминокислот. Несколько позднее Вольфром, Лемьё и Олин [13] также получили данные, подтверждающие эти выводы. Они осуществили химическое превращение D-глюкозамина (XVII) в ацетил-L-аланин (XXIV) способом, изображенным формулами XVII—XXV на рис. 6. Здесь следует отметить, что хотя связанный с аминогруппой асимметрический атом углерода в D-глюкозамине (XVII) обладает D-конфигурацией, восстановление альдегидной группы в соединении XXII приводит к ацетилаланину (XXIII или XXIV), обладающему L-конфигурацией. Отсюда следует, что в веществе, являющемся стандартом отнесений, легко осуществим обмен групп с одновременным изменением конфигурации. Все эти превращения устанавливают корреляцию конфигураций D-аланина с D-глюкозаминовой кислотой (XVII) и, следовательно, с D-глюкозой и D-глицериновым альдегидом.

28. Корреляции с помощью квазирацемических соединений. При кристаллизации равных количеств (+)- и (—)-антиподов (I и II) данного асимметрического соединения часто происходит образование молекулярных соединений. Такие соединения обычно называют *рацемическими соединениями*. Они, как правило, обладают физическими свойствами, позволяющими легко отличить их от оптических изомеров. Молекулярные соединения подобного типа можно также получать из оптически активных соединений, являющихся структурно сходными, но не энантиомерными (II и III). Так, Центнерцвер [382] в 1899 г. установил, что (—)-бромянтарная кислота (IV), будучи смешана в эквимолекулярных количествах с (+)-хлорянтарной кислотой (V) образует соединение, поведение которого напоминает поведение рацемического соединения.



Однако в отличие от истинно рацемического соединения, которое не обладает оптической активностью, молекулярное соединение, образованное из неэнантиомерных составляющих, обычно обладает способностью вращать плоскополяризованный свет, за исключением тех редких случаев, когда молекулярное вращение каждого из компонентов имеет в условиях определения одинаковую величину и противоположный знак. Из-за способности к оптическому вращению такие молекулярные соединения были вначале названы *активными рацематами* [383]. Использовался [382, 385] также термин *частичный рацемат*, предложенный Фишером [384] для обозначения молекулярных соединений, образованных двумя диастереомерными

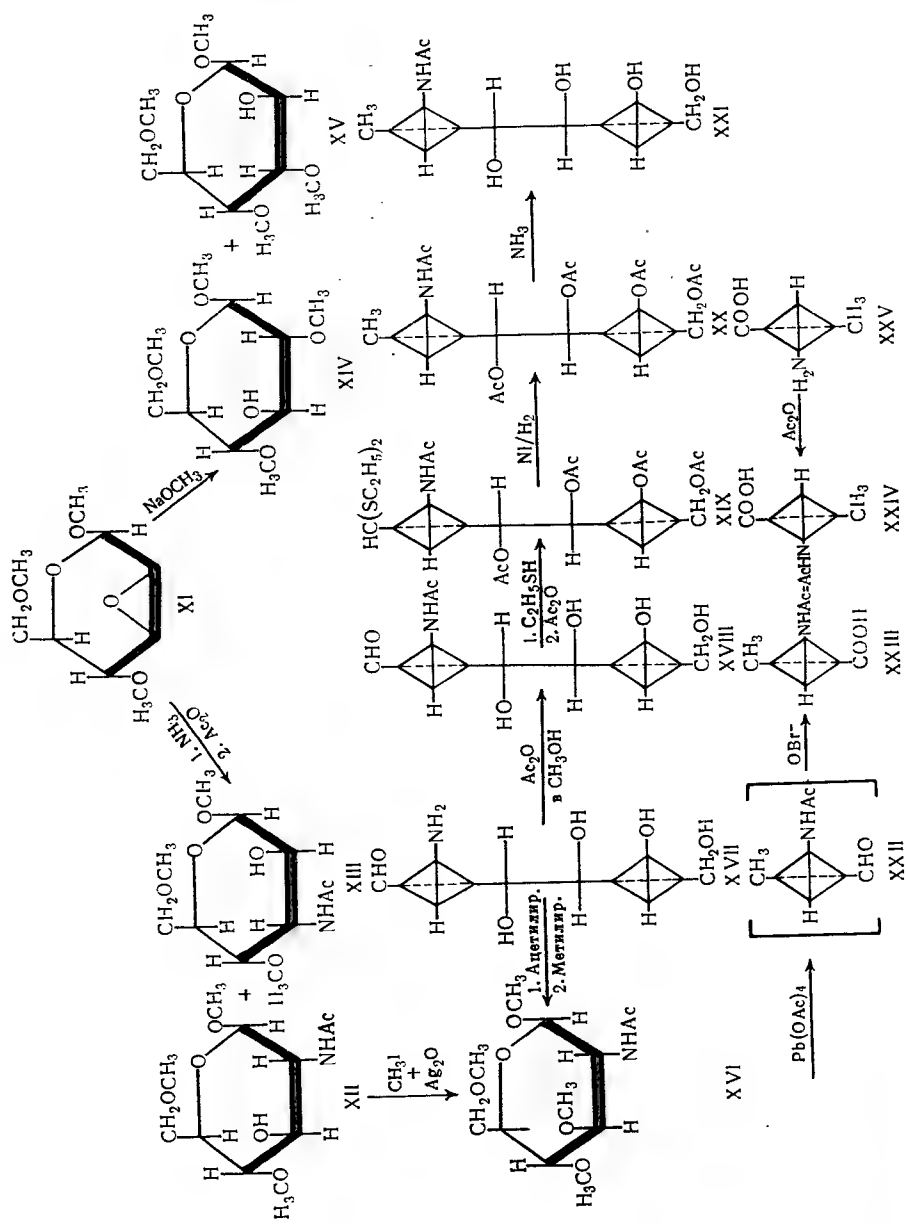


Рис. 6. Корреляция D-глюкозамина с аминокислотами и углеводами.

соединениями. Однако в настоящее время для обозначения *эквимолекулярных смесей, образующихся из двух оптически активных соединений очень близкой структуры, но противоположной конфигурации*, чаще всего применяют термин *квазирацемические соединения* [386]. Если один из компонентов заменить его энантиомером, квазирацемическое соединение не образуется.

Как показано на рис. 7, кривые плавления смеси двух антиподов данного асимметрического соединения могут быть трех типов. Они могут указывать на образование а) ряда твердых растворов (кривая *А*), б) простой эвтектики (кривая *Б*) или в) истинно рацемического соединения, характеризуемого отчетливым максимумом при 50%-ном содержании каждого из компонентов и наличием двух эвтектик (кривая *В*). Каждая из этих кривых

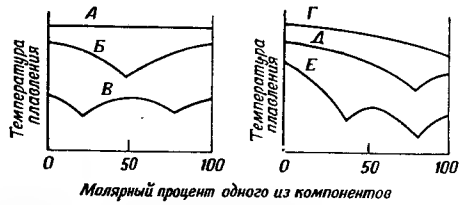
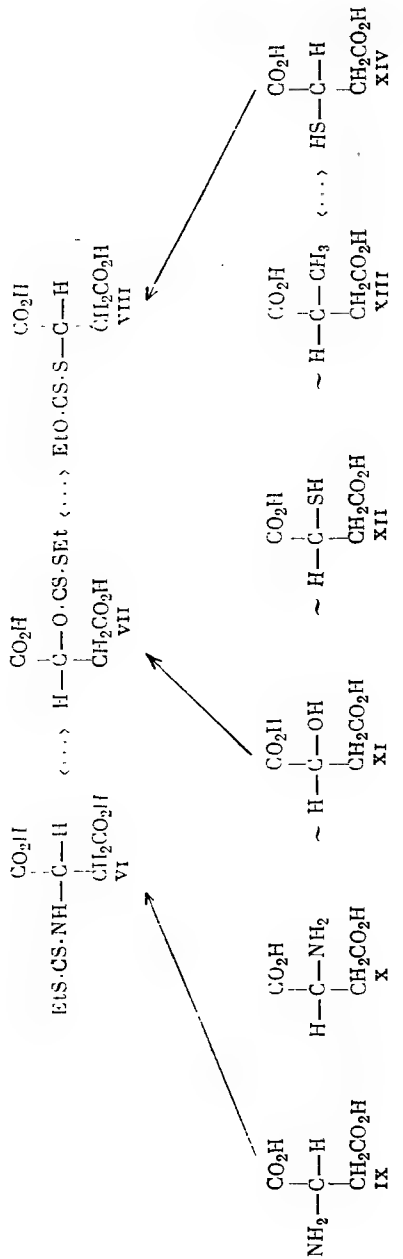


Рис. 7 (слева). Кривые плавления смеси истинных энантиомеров [386, 389, 390].
Рис. 8 (справа). Кривые плавления смесей структурно сходных, но не энантиомерных соединений [386, 389, 390].

обычно симметрична. Смесь оптически активных соединений, являющихся структурноподобными, но не энантиомерными, дает также три типа кривых плавления (рис. 8). Однако в этом случае кривые, как правило, несимметричны.

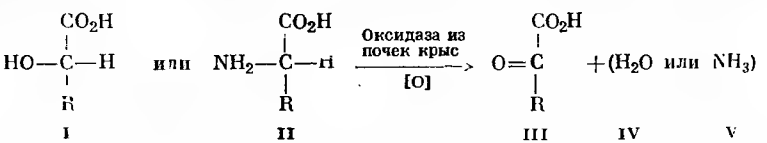
Так, кривые *Г* и *Д* указывают соответственно на образование твердого раствора и простой эвтектики, кривая же *Е* указывает на образование квазирацемического соединения. Хотя графики температур плавления последнего типа характерны для квазирацемических соединений, подобное поведение не обязательно присуще всем сходно построенным соединениям с противоположной конфигурацией. В тех же случаях, когда наблюдается такое поведение, становится возможным выяснение конфигурационных отношений между двумя классами веществ.

Образование квазирацемических соединений для установления конфигураций наиболее часто использовалось в работах Фредга [387]. Этот метод дал возможность Фредгу [388] в 1941 г. точно установить конфигурационные соотношения между антиподами аспарагиновой и яблочной кислот. Поскольку определение температур плавления сильно полярных свободных аминокислот редко позволяет сделать надежные выводы, обычно применяют подходящие их производные. Показано, что ксантогенат яблочной кислоты (VII) образует квазирацемическое соединение с соответствующим производным аспарагиновой кислоты (VI), что позволило приписать (+)-яблочной кислоте (XI) и (—)-аспарагиновой кислоте (X) одинаковые конфигурации. Сходным образом установлено, что (+)-молочная кислота и (+)-аланин имеют одинаковую конфигурацию. Дальнейшие корреляции удалось осуществить благодаря тому, что смесь (—)-тиолянтарной кислоты (XIV) и (+)-метилянтарной кислоты (XIII) дает квазирацемическое соединение [389], а ксантогенат (—)-тиолянтарной кислоты (VIII) образует молекулярное соединение с ксантогенатом (+)-яблочной кислоты (VII) [390]. Отсюда следовало, что (—)-аспарагиновая кислота (X), (+)-яблочная кислота (XI).

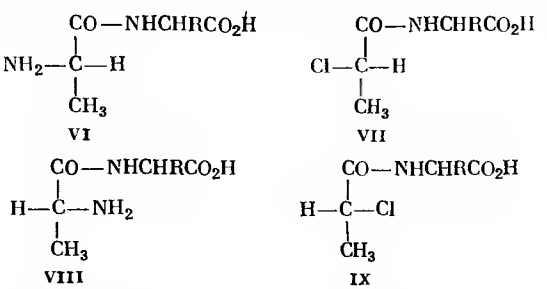


(+)-тиолянтарная кислота (XII) и (+)-метилянтарная кислота (XIII) обладают одной и той же конфигурацией. Эти выводы полностью совпадают с выводами, полученными независимыми и вполне надежными методами. Поэтому, очевидно, что образование квазирацемических соединений является надежным доказательством, на которое могут опираться при установлении стереохимических соотношений между различными классами соединений.

29. Энзиматические методы. Несмотря на то что стереоспецифическое действие различных ферментов широко используется для определения конфигурации большого числа α-аминокислот, этот метод лишь редко применяется для выяснения стереохимических соотношений между α-аминокислотами и другими классами соединений. Применение энзиматического метода для этой цели явилось частью исследований Бланшара, Грина, Нокито и Ратнера [391], которые показали, что как L-аминокислоты (II) так и L-α-оксикислоты (I) подвергаются окислительному действию фермента, выделенного из почек крыс, а соответствующие D-антиподы тех же классов соединений не чувствительны к этому ферменту. Достоверность корреляций, установленных этим путем, конечно, зависит от того, насколько справедливо допущение, что и α-аминокислота и α-оксикислота подвергаются действию



одного и того же фермента [392]. Стереоспецифическое действие гидролитических ферментов можно использовать для выяснения стереохимических зависимостей между α-аминокислотами и α-хлоркислотами. Это установлено более поздними исследованиями специфичности ацилазы I из почек свиньи. Так, показано, что антиподная специфичность, проявляемая этим ферментом в отношении ацилированных аминокислот, зависит не только от характера остатка на карбоксильном конце субстрата, но, хотя и в значительно меньшей степени, от типа асимметрического ацильного заместителя [393]. Такие исследования показали, что ацилированные аминокислоты, в которых ацильная группа имеет L-конфигурацию, более чувствительны к действию фермента, чем соответствующие субстраты с D-ацилзаместителем.



Данные, приведенные в табл. 41, ясно показывают, что различные L-аланил-L-аминокислоты (VI) и L-α-хлорпропонил-L-аминокислоты (VII) претерпевают расщепление с большей скоростью, чем соответствующие D-ацил-L-аминокислоты (VIII и IX) [393]. Как и в случае оксидаз, активность ацилазы I в отношении различных субстратов может быть целиком

Таблица 41

Чувствительность ацилированных L-аминокислот, содержащих оптически активные ацильные группы, к почечной ацилазе I [393]

Концевой остаток аминокислоты	Скорость гидролиза [a]			
	α-хлорпропионил-производные		аланилпроизводные	
	L-форма	D-форма	L-форма	D-форма
Глицин	23	13	240	0,5
L-Аланин	87	19	1200	3
L-Бутирин	290	28	5650	12
L-Норвалин	1240	106	9500	28

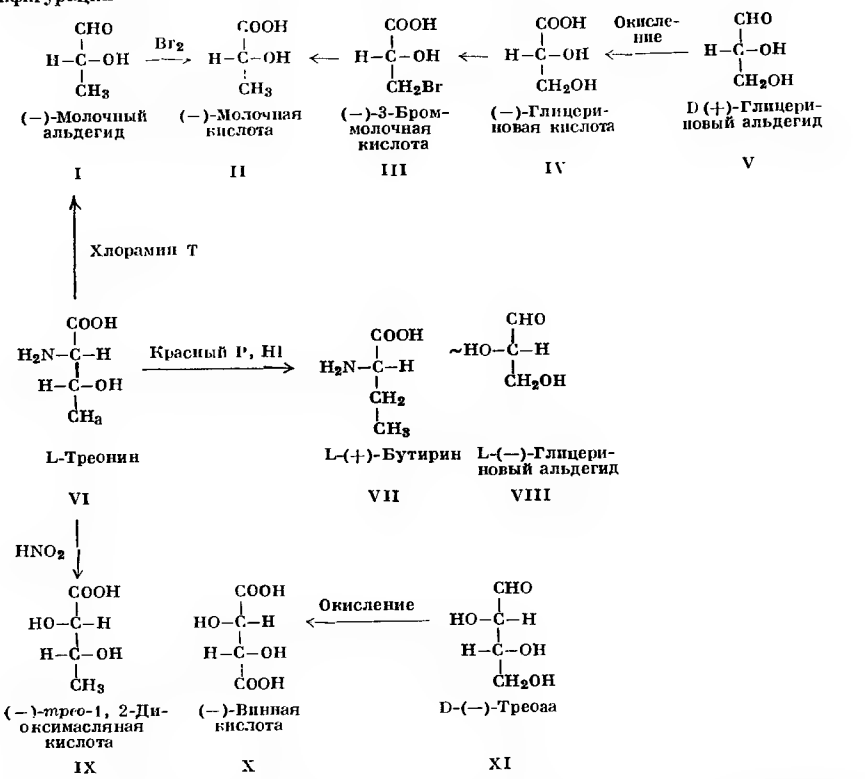
[a] Скорость выражена в микромолях субстрата, гидролизуемого при 37° в 1 *час* на 1 *мг* N фермента. Среда состоит из 1 *мл* 0,01 *М* фосфатного буфера с pH 7,0, 1 *мл* 0,025 *М* нейтрализованного субстрата и 1 *мл* раствора фермента, надлежащим образом разбавленного.

приписана одной ферментной системе. Следовательно, стереоспецифическое действие ферментов является достаточно надежным способом доказательства стереохимических соотношений между различными классами соединений.

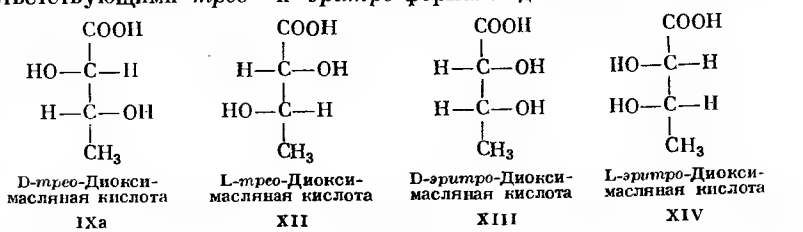
СТЕРЕОХИМИЧЕСКАЯ КОНФИГУРАЦИЯ ДИАСИММЕТРИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ

30. Треонин — химические корреляции. Классические исследования Роза совместно с Мейером [46, 394] и Мак-Коем [394] привели к выяснению пространственных отношений между двумя соседними асимметрическими центрами L-треонина и к установлению конфигурации каждого из этих центров по отношению к D-глицериновому альдегиду. Определение конфигурации α-асимметрического центра белковой α-амино-β-окси-*н*-масляной кислоты (VI) было осуществлено восстановлением этого соединения иодистоводородной кислотой и красным фосфором до правовращающей формы бутирина (VII) (см. схему.). Поскольку природный бутирин вращает вправо [395] и относится к L-ряду аминокислот [102, 396], для установления конфигурации α-атома углерода достаточно определения оптического вращения продукта восстановления. Поскольку известна стереохимическая эквивалентность α-асимметрического центра природного треонина (VI) и L-глицеринового альдегида (VIII), для решения вопроса о конфигурации β-атома углерода достаточно знать конфигурацию оптически активной молочной кислоты, образующейся при окислительном расщеплении треонина. В этой связи важно отметить исследования Воля и Шелленберга [9], проведенные в 1922 г., из которых следует зависимость между (+)-глицериновым альдегидом (V) и (—)-глицериновой кислотой (IV). Структурная связь последней с (—)-молочной кислотой (II) была установлена Фрейденбергом [10] путем превращения IV через стадию образования (—)-3-броммолочной кислоты (III) в соединение II. Поскольку расщепление L-треонина хлорамином T и последующее окисление образующегося (—)-молочного альдегида (I) приводит к получению (—)-молочной кислоты, ясно, что β-асимметрический атом углерода треонина имеет конфигурацию (+)-глицеринового альдегида и относится поэтому к D-ряду [46]. Основываясь на этих корреляциях, L-треонину следует приписать α-L-β-D-конфигурацию.

Соотношения α- и β-асимметрических центров L-треонина с соединениями известной конфигурации



Относительное пространственное расположение двух асимметрических атомов углерода L-треонина может быть также установлено корреляцией с соответствующими *трео*- и *эритро*-формами диоксимасляной кислоты.

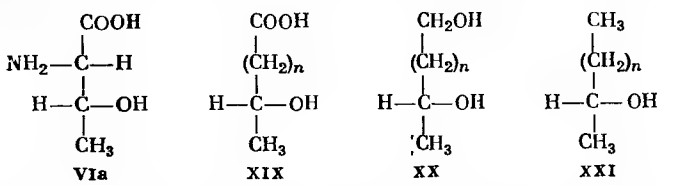


Так, дезаминирование L-треонина (VI) азотистой кислотой [46] приводит к (—)-*трео*-диоксимасляной кислоте (IX). Это превращение α-аминокислоты в соответствующую α-оксикислоту протекает без вальденовского обращения и поэтому дает соединение, идентичное по конфигурации исходной аминокислоте (раздел 26). Поскольку при этом получается *трео*-диок-

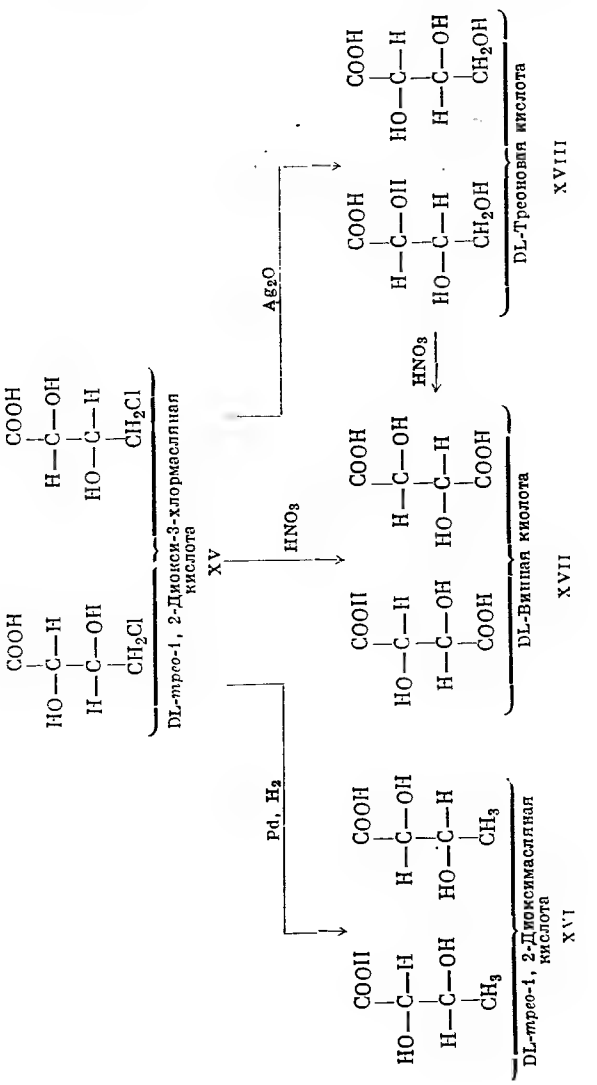
симасляная кислота (IX) и конфигурация α-центра аминокислоты (VI) ранее была доказана восстановлением ее до L-бутирина (VII), полная конфигурация L-треонина (VI) оказывается, таким образом, установленной.

Следует отметить, что вышеприведенные выводы относительно конфигурации L-треонина не требуют предварительного установления конфигурации соответствующей диоксимасляной кислоты (IX). Если вначале установлена конфигурация при α-асимметрическом атоме углерода аминокислоты, то сведения о конфигурации при β-атоме углерода вытекают уже из самого факта, что из нее получается *трео*-форма диоксикислоты. Выяснение конфигурации L-треонина и последующее его превращение в *трео*-диоксимасляную кислоту дает также сведения о пространственной структуре изомерных *трео*-диоксимасляных кислот и их отношении к изомерным винным кислотам. В 1930 г. Браун [397] методом, представленным на схеме (стр. 217), установил структурное сходство DL-*трео*-1,2-диоксимасляной кислоты (XVI) и DL-винной кислоты (XVII), а также DL-триоксимасляной кислоты (XVIII). За этим последовало сообщение Глатфельда и Читтума [398] относительно расщепления *трео*-формы диоксимасляной кислоты (XVI) с помощью бруцина и хинидина. Основываясь на идентичности (—)-*трео*-диоксимасляной кислоты и кислоты IX, полученной дезаминированием L-треонина (VI) азотистой кислотой, удалось выяснить, к какому конфигурационному ряду принадлежит каждый из антимеров [46]. Поскольку конфигурационное сходство (+)-глицинового альдегида (V) и (—)-винной кислоты (X) было выяснено ранее Волем и Момбером [15], оказывается доступным еще один путь корреляции β-асимметрического центра L-треонина и (+)-глицеринового альдегида. Наконец, давно проведенные наблюдения Маркенна [399] показали, что (—)-винная кислота (X) образуется при окислении D-(—)-треозы (XI), что, следовательно, перекидывает мост от L-треонина (VI) к этому сахару. В этой связи интересно отметить, что, поскольку природный треонин (VI) имеет пространственную конфигурацию, аналогичную D-треозе (XI), было предложено обозначать его *d*-(—)- или D-(—)-треонином в согласии с номенклатурой, обычно применяемой в ряду сахаров [46]. Однако, согласно действующей номенклатуре аминокислот, это соединение сейчас обозначают как L-треонин.

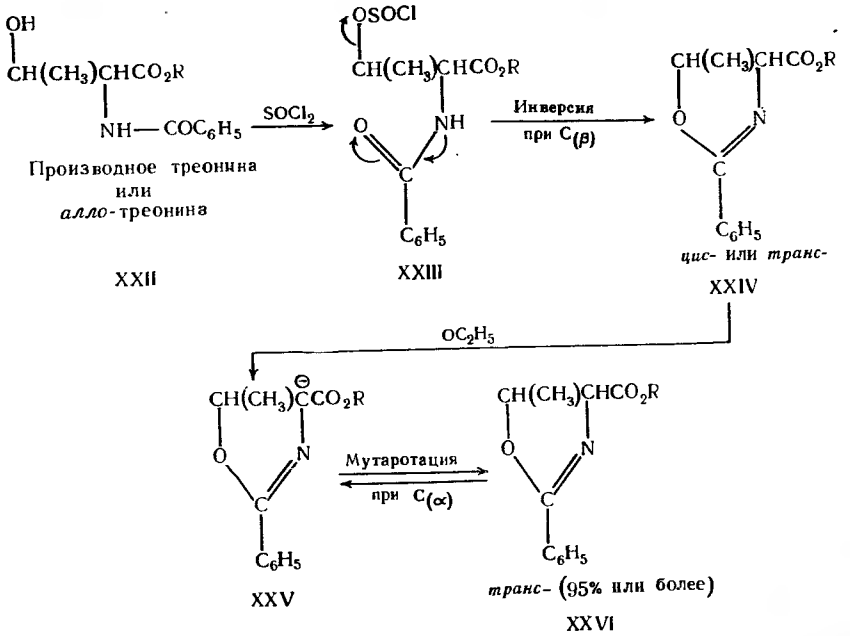
Вследствие обширных исследований Левена и Халлера [400], Пиккара и Кеньона [401] и других [223, 402—407] число соединений, которые можно конфигурационно сопоставить с β-асимметрическим центром L-треонина, достигло внушительной цифры. Некоторые из большого числа корреляций, установленных в результате этих исследований, представлены на схеме:



Здесь изображены пространственные отношения некоторых оксикислот (XIX; $n = 0, 1, 2$), продуктов их восстановления (XX) и вторичных спиртов (XXI; $n = 1—11$), содержащих вторичноспиртовую группу, конфигурационно идентичную спиртовой группе L-треонина (VIa). Каждое из этих соединений (XIX—XXI) изображено в левовращающей форме, и все они обладают пространственной конфигурацией, идентичной конфигурации β-D-асимметрического атома углерода L-треонина (VIa).

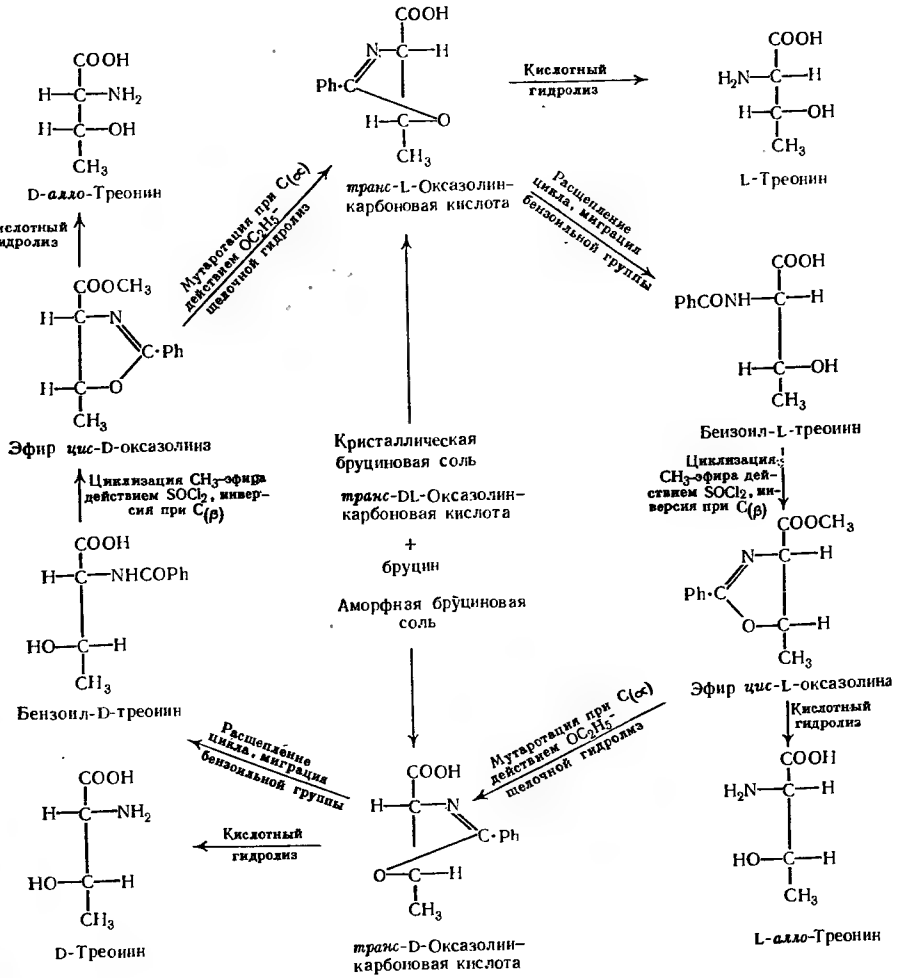


Методы химической инверсии. Предшествующими исследованиями установлены конфигурационные отношения α- и β-асимметрических центров L-треонина (а следовательно, и D-треонина) и глицеринового альдегида. Однако, поскольку конфигурации α- и β-центров антиподов *алло*-треонина не были известны, такие исследования мало способствовали установлению корреляций обоих *алло*-стереомеров треонина этим стандартам отнесений. Эти сведения получены в результате более поздних исследований химических взаимопревращений рацематов, а также четырех стереоизомеров треонина и *алло*-треонина. В первом случае [408—412] метиловый эфир N-бензоил-DL-*алло*-треонина (XXII) превращали обработкой хлористым тионилом в *транс*-4-карбэтокси-2-фенил-5-метил-Δ^2-оксазолин (XXIV) методом, аналогичным использованному Бергманом и Миккели [413] в случае серина. Действие на этот оксазолин минеральными кислотами приводит к DL-треонину. Напротив, будучи применен к метиловому эфиру N-бензоил-DL-треонина, этот метод приводит к образованию изомерного *цис*-оксазолина и далее DL-*алло*-треонина. Кроме того, обработка *цис*-оксазолина (XXIV) щелочью ведет к мутаротации α-центра и образованию *транс*-оксазолина (XXVI). Механизм указанных превращений [409] представлен на следующей схеме:



Эти реакции использованы Эллиоттом [410] для химических взаимопревращений четырех стереоизомерных форм треонина. Разделение *транс*-DL-оксазолинкарбоновой кислоты было осуществлено с помощью бруцина. Оптически активные формы при обработке в мягких условиях кислотой дают соответственно бензоил-L-треонин или бензоил-D-треонин, а при жестком гидролизе превращаются в L- или D-треонин. Этерификация полученных бензоилпроизводных спиртом в присутствии хлористого тионила сопровождается инверсией при $C_{(\beta)}$-атоме с образованием оптически активного

изомера *цис*-оксазолина. Кислотный гидролиз последнего приводит к соответствующей оптически активной форме *алло*-треонина, а мутаротация при $C_{(\alpha)}$ обработкой щелочью и последующий гидролиз дают оптический энантиомер исходного треонина. Осуществленные Эллиоттом [410] превращения представлены на схеме. На этой схеме обозначения D- или L-соответствуют,



как и для всех аминокислот, $C_{(\alpha)}$-центру, но проекционные формулы отвечают правилам, применяемым в ряду углеводов [410].

Рентгеноструктурный анализ. Прекрасное и исчерпывающее исследование треонина методами дифракции рентгеновских лучей выполнено Шомейкером, Донохью, Шомейкером и Кори [414]. Форма молекулы треонина, межмолекулярные расстояния и валентные углы, полученные в результате этих исследований, даны на рис. 9. Эти данные полностью соответствуют *трео*-расположению соседних асимметрических атомов углерода, установленному Розом и Мейером [46] с помощью химических данных. Как отмечали

сами авторы [414], дополнительное подтверждение *трео*-конфигурации треонина методом рентгеноструктурного анализа оказалось весьма полезным, поскольку нельзя было полностью исключить возможность вальденовского

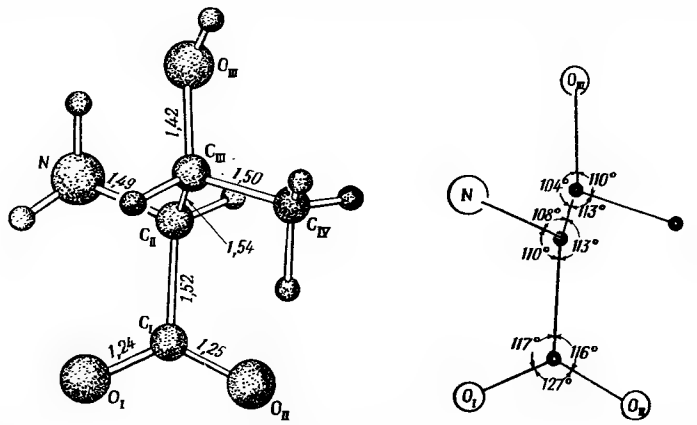


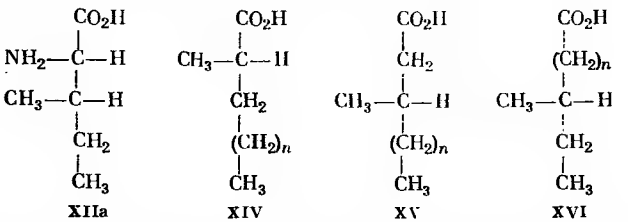
Рис. 9. Молекула треонина; указаны межатомные расстояния и валентные углы [414].

обращения при его дезаминировании азотистой кислотой. Эти результаты, кроме того, дают независимый способ однозначного доказательства стереохимических соотношений между аминокислотами, с одной стороны, и сахарами — с другой.

31. Изолейцин. *Химические корреляции.* В 1907 г. Эрлих [242] показал, что действие дрожжей на L-изолейцин сопровождается дезаминированием и декарбоксилированием аминокислоты и образованием (—)-2-метилбутанола-1. Выяснение конфигурации этого последнего соединения по отношению к глицериновому альдегиду имеет существенное значение для установления пространственных отношений β-атомов углерода D- и L-изолейцина и α-асимметрических центров этих аминокислот. Стереохимическую корреляцию (—)-2-метилбутанола-1 (XI) и L-глицеринового альдегида изучали Стельберг—Стенхаген и Стенхаген [354]; она была установлена в основном с помощью ряда реакций, изображенных на схеме (см. стр. 222).

В этой связи следует отметить, что выяснение важных соотношений между L-(—)-глицериновым альдегидом (I) и (—)-яблочной кислотой (VI) удалось благодаря усилиям Фрейденберга [10] в 1914 г., а стереохимическую эквивалентность последней и (—)-метилянтарной кислоты (VII) доказал Фредга [389, 390] с помощью метода квазирацемических соединений (раздел 28). Поскольку (—)-метилянтарная кислота (VII) и (+)-2-метилпентановая кислота (IX) могут быть получены соответственно окислением [354, 415] и восстановлением [416] (+)-метилаллилуксусной кислоты (VIII), конфигурационная идентичность этих соединений очевидна. Ранние работы Марквальда [417] и Левена и Маркера [418] позволили коррелировать (+)-2-метилбутановую (X) и (+)-2-метилпентановую (IX) кислоты, основываясь на правдоподобной предпосылке, что гомологичные кислоты, вращающие в одном направлении (определение в гомогенном состоянии), обладают одинаковой относительной конфигурацией. Поскольку первое соединение (X) получается методами окисления [417] из (—)-2-метилбутанола-1 (XI) — продукта расщепления L-изолейцина дрожжами [242], то очевидно, что β-асимметрический атом углерода L-изолейцина (XII) конфигурационно сходен с L-глицериновым альдегидом (I). Благодаря ранее установленной Эрлихом [241, 242] конфигурационной эквивалентности β-асимметрических центров L-(+)-изолейцина (XII) и (—)-*алло*-изолейцина (XIII) относительные пространственные положения заместителей вокруг α- и β-центров асимметрии в каждом из четырех возможных стереомеров оказываются, таким образом, выясненными.

В последние годы число соединений, конфигурация которых сходна с конфигурацией β-асимметрического центра L-изолейцина (XIIa), значительно возросло в связи с интересом к жирным кислотам с разветвленной цепью [419—421]. Увеличилось число синтезированных *антеизо*- и других кислот [354, 416, 422—425]. Некоторые корреляции, установленные в ходе этих исследований, даны на следующей схеме:



Эти корреляции показывают конфигурационные соотношения некоторых представителей α-метилкислот (XIV; n = 0, 1, 6, 12), β-метилкислот (XV; n = 1, 2, 3, 14, 18, 19) и *антеизо*-кислот (XVI; n = 0, 1, 4, 12, 19). Природные формы последних, как и L-изолейцин (XIIa) и D-*алло*-изолейцин, имеют L-метильную группу. Термин L-метил, согласно предложению Стельберг-Стенхагена [422] и Клайна [426], обозначает метильную группу, расположенную слева от цепи на фишеровской проекционной формуле (ср. XIV). Клайн [427] суммировал данные по молекулярному вращению природных (+)-*антеизо*-кислот (табл. 42), которым была приписана конфигурация

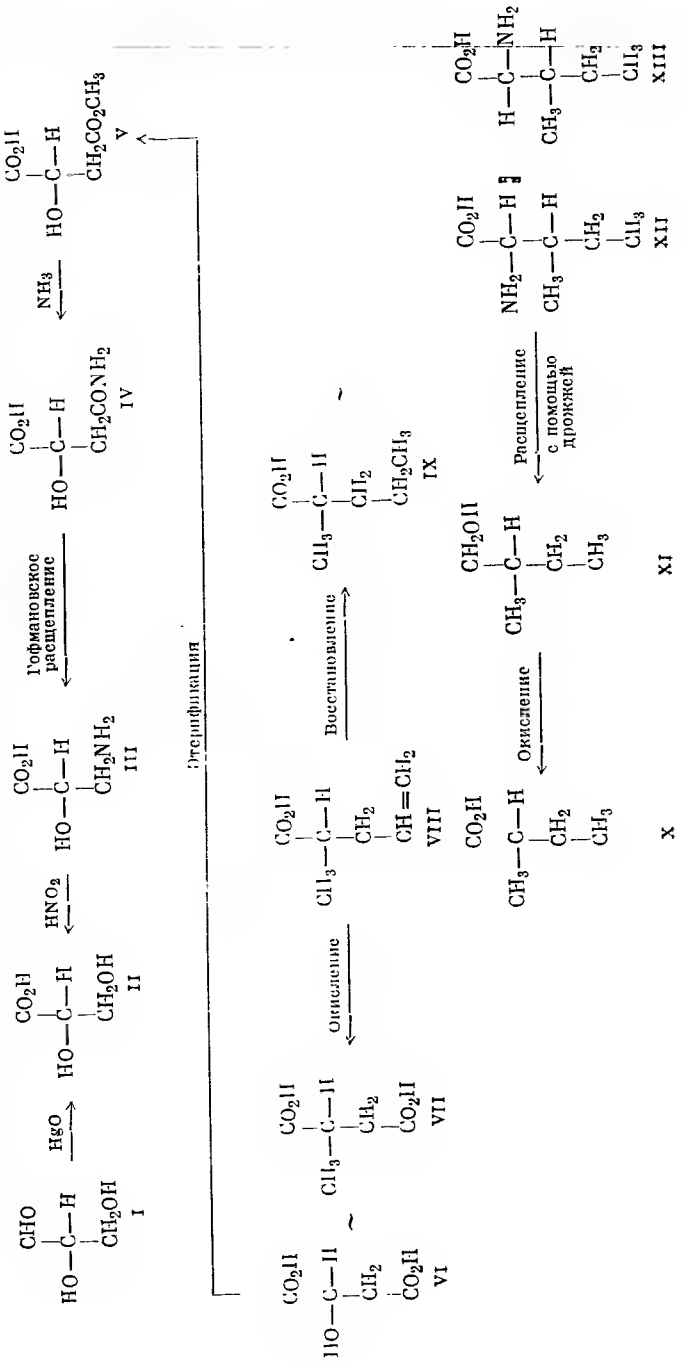
Таблица 42

Молекулярное вращение (+)-*антеизо*-кислот [427]

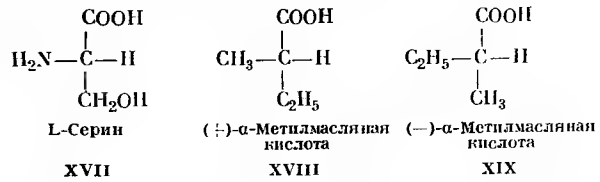
Кислота	Формула XVI, n	$[M]_D$, градусы	Литература
2-L-Метилбутановая	0	+18	428
3-L-Метилпентановая	1	+10	429
4-L-Метилгексановая	2	+11	430
6-L-Метилоктановая	4	+13	424
12-L-Метилтетрадекановая	10	+10	419, 420
14-L-Метилгексадекановая	12	+14 +12	420, 423, 419
16-L-Метилоктадекановая	14	+12	420
21-L-Метилтрикозановая	19	+13	422

L-метилкислот вследствие их правого вращения и стереохимического сходства с L-(—)-2-метилбутанолом-1.

Конфигурационные соотношения β-асимметрических центров L-изолейцина и L-глицеринового альдегида



Биологические методы корреляции. Из предшествующего обсуждения следует, что приписание конфигурации (+)-α-метилмасляной кислоте относительно некоторых стандартов типа L- или D-глицеринового альдегида позволяет установить L- или D-конфигурацию β-асимметрического атома углерода у каждого из четырех стереоизомеров изолейцина [139]. Однако, поскольку асимметрический атом α-метилмасляной кислоты связан с двумя алкильными заместителями, введение для этого соединения обозначений D или L может оказаться весьма спорным, если основываться только на абсолютной конфигурации. Из рассмотрения следующих формул видно, как может возникнуть подобная двусмысленность.



Здесь сопоставлены проекция конфигурации, типичной для L-аминокислоты, изображенной согласно правилам, принятым для проекций Фишера, и проекции лево- и правовращающих форм α-метилмасляной кислоты. Последние изображены таким образом, что они согласуются как с данными, полученными с помощью рентгеноструктурного анализа [353], так и с приведенными выше химическими доказательствами абсолютной конфигурации β-асимметрического центра изолейцина по отношению к L-глицериновому альдегиду. Легко видеть, что либо левовращающей (XIX), либо правовращающей (XVIII) форме α-метилмасляной кислоты можно приписать L-конфигурацию в зависимости от того, занимает ли этильная группа первого или метильная группа последнего соединения положение, эквивалентное положению, занимаемому аминогруппой аминокислоты (XVII). Таким образом, на основе лишь абсолютных конфигураций выбор между D- и L-конфигурациями для тех кислот, у которых две алкильные группы связаны с асимметрическим атомом углерода, становится невозможным. Тем не менее обозначение конфигурации у соединений этого типа можно легко осуществить, если подойти к ним с точки зрения их биологического поведения. Так, α-метилмасляной кислоте можно обоснованно приписать D- или L-конфигурацию, если поведение этого соединения или его производных сопоставить с поведением соединений известной конфигурации в отношении биологических систем известной стереохимической специфичности.

Недавно сообщено [355] о применении с этой целью строго специфичных ферментов, что позволило внести ясность в проблему оптической конфигурации β-асимметрического центра изомерных изолейцинов. В этом случае воспользовались уже наблюдавшимся [393] свойством — большей чувствительностью L-ацил- L-аминокислот по сравнению с D-ацил-L-аминокислотами в отношении гидролитического действия почечной апилазы I (раздел 20). Действию фермента подвергали [355] *dl*-α-метилбутирил-*l*-норлейцин. Полученный продукт гидролиза был смесью свободных (+)- и (—)-α-метилмасляных кислот с преобладанием (+)-формы. Поскольку избирательность действия фермента должна привести к образованию преимущественно (+)-α-метилмасляной кислоты (XVIII) и поскольку эта кислота может образоваться как из L-изолейцина, так и из D-*алло*-изолейцина, β-асимметрический центр этих стереомеров должен обладать L-конфигурацией. Следовательно,

β-атому углерода D-изолейцина и его диастереоизомера — L-*алло*-изолейцина следует приписать D-конфигурацию.

Здесь интересно отметить, что определение конфигурации β-асимметрического центра изолейцина смыкается с исследованиями по выяснению влияния конфигурации ω-асимметрического центра диасимметрических аминокислот на их биологическое поведение. Предшествующие исследования стереохимической специфичности, проявляемой ферментами типа оксидаз, декарбоксилаз, трансаминаз и протеаз в отношении α-аминокислот или некоторых их производных, касались всегда и без исключения лишь влияния α-асимметрического центра. Однако на основе известных конфигураций β-асимметрических центров изомерных изолейцинов [355], треонинов [46, 375] и фенилсеринов (раздел 40) установлена корреляция между конфигурацией этого центра и способностью α-асимметрического центра подвергаться действию различных L- и D-специфичных энзиматических систем [140, 355]. В табл. 43 приведены имеющиеся по этому вопросу данные. Из них видно, что скорость действия оксидазы L-аминокислот из *Crotalus adamanteus* на L-треонин (XX), L-фенилсерин (XXI) и L-*алло*-изолейцин (XXII), в которых β-асимметрический атом углерода имеет D-конфигурацию, во всех случаях меньше, чем скорость ее действия на соответствующие β-L-диастереомеры (XXIII, XXIV и XIIб).

Таблица 43

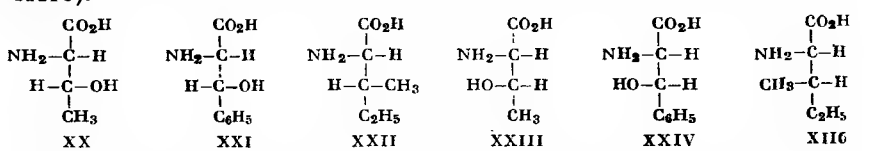
Влияние β-асимметрического центра на чувствительность α-асимметрического центра диасимметрических аминокислот к действию различных ферментов [140]

Аминокислота	Окисление оксидазами [а]			
	α-D-аминокислот		α-L-аминокислот	
	β-углерод	скорость [б]	β-углерод	скорость [в]
Треонин	L	0,3	D	0
алло-Треонин	D	2,6	L	0,9
Изолейцин	D	14,8	L	71
алло-Изолейцин	L	5,9	D	0,8
Фенилсерин	L	0	D	0,7
алло-Фенилсерин	D	0	L	140

[а] Скорость выражена в микромолях кислорода, потребляемого в 1 *час* в расчете на 1 *мг* N.

[б] Ацетоновый порошок почек свиньи.

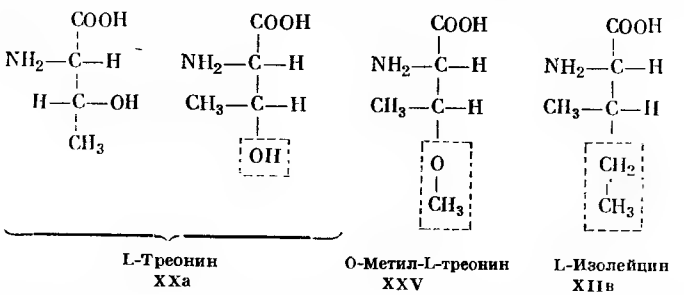
[в] Яд *Crotalus adamanteus*.



Сходным образом действие оксидазы D-аминокислот из почек свиньи на D-*алло*-треонин и D-изолейцин, у которых β-асимметрический центр имеет D-конфигурацию, происходит с большей скоростью, чем на соответствующие их β-L-стереомеры.

Эти данные определенно показывают, что для *ферментативного действия преимущественно α-L-специфичных оксидаз L-конфигурация β-асимметрического центра более благоприятна, чем β-D-конфигурация, тогда как для преимущественно α-D-специфичных ферментов имеет место обратная картина.* В более поздних исследованиях энзиматического декарбоксилирования стереоизомерных 3,4-диоксифенилсеринов было обнаружено сходное положение [431, 432]. Подобная ситуация наблюдалась и при действии α-L-специфичной ацилазы I из почек на N-ацилированные L-*алло*-треонин и L-изолейцин, которые, как известно, более чувствительны, чем соответствующие производные L-треонина или L-*алло*-изолейцина [355]. При действии же аминопептидазы на пептиды изолейцина и треонина такого различия не обнаружено [140]. Из-за отсутствия дополнительных данных следует воздержаться от каких-либо выводов относительно гидролитического действия пептидаз. Однако данные, полученные с оксидазами аминокислот и декарбоксилазами, свидетельствуют, что эти ферменты представляют потенциальную ценность для выяснения стереохимических отношений между конфигурациями α- и β-центров диасимметрических аминокислот.

Здесь интересно отметить, что степень чувствительности α, β-диасимметрической аминокислоты к действию L- или D-специфичных оксидаз аминокислот может значительно изменяться в зависимости от структурных изменений β-асимметрического атома углерода, осуществленных методами, не сопровождающимися вальденовским обращением [140]. Биологическое поведение оптических антиподов О-метилтреонина и О-метил-*алло*-треонина представляет в этой связи особый интерес из-за их близкого структурного сходства с изомерными изолейцинами и треонинами. Это сходство иллюстрируется при помощи проекций Фишера, которые изображают L-энантиомеры треонина (XXа) О-метилтреонина (XXV) и изолейцина (XIIв). Из рассмотрения этих формул следует, что L-изомер О-метилтреонина может возникнуть или при замещении атома водорода в оксигруппе L-треонина на метильную группу, или при замене C_4-метиленовой группы L-изолейцина атомом кислорода. Однако β-асимметрические центры L-треонина и L-изолейцина конфигуративно сходны соответственно с D- и L-глицериновыми альдегидами. Поэтому, основываясь лишь на структурных предпосылках, нельзя однозначно установить конфигурационные соотношения β-асимметрического центра О-метилтреонинов и соединения с известной конфигурацией. Эту неопределенность можно устранить, если те же соединения изучать с точки зрения их относительной чувствительности к окислительному дезаминированию различными оксидазами L- и D-аминокислот.



Зная это, целесообразно сравнить скорости окисления как L-, так и L-*алло*-антиподов изолейцина, треонина и О-метилтреонина десятью различными *офио*-оксидазами L-аминокислот, а также соответствующих D-стерео-

изомеров оксидазами D-аминокислот из почек свиньи и овцы [140]. Данные табл. 44 показывают, что L-изолейцин и L-*алло*-треонин, имеющие β-L-кон-

Таблица 44

Скорости окисления[а] диасимметрических L-аминокислот различными оксидазами из змеиного яда [140]

Оксидаза	L-O-Ме-Треонин	L-O-Ме-*алло*-Треонин	L-Треонин	L-*алло*-Треонин	L-Изолейцин	L-*алло*-Изолейцин
Crotalus adamanteus	1,12	0,39	0	0,90	71,00	0,80
Crotalus basiliscus	0,14[б]	0	0,45	0,83	8,71	0,78
Bothrops jararaca	0,26	0,10	0	1,17	19,88	1,03
Naja hanna	0,59	0,25	0	4,40	38,90	3,79
Agkistrodon contortrix	0,52	0	0	1,42	8,41	1,31
Naja flava	0,08[б]	0,06	0,23	0,38	3,20	0,11
Crotalus terrificus	1,42	0,65	0,63	4,04	41,36	3,09[б]
Crotalus h. atricandatus	0,37	0	0,55	2,25	16,35	1,20
Crotalus h. horridus	0,20[б]	0	0	0,91	5.59	0,66
Bungarus yasciatus	0	0	0	0,36	0,81	0,08

[а] Выражено в микромолях кислорода, потребляемого в 1 час на 1 *мг* N при 38°.

[б] Скорость определялась после начального 20-минутного периода покоя.

фигурацию, окисляются каждой из испытанных оксидаз L-аминокислот со значительно большей скоростью, чем соответствующие им β-D-стереомеры. Такие результаты полностью согласуются с ранее отмечавшейся избирательностью α-L-специфичных оксидаз в отношении соединений с β-L-конфигурацией. Поэтому более резко выраженное действие оксидаз L-аминокислот на O-метил-L-треонин, чем на O-метил-L-*алло*-треонин, ясно указывает на β-L-конфигурацию первой аминокислоты и β-D-конфигурацию вто-

Таблица 45

Влияние β-асимметрического центра на чувствительность α-асимметрического центра диастереомерных аминокислот в отношении оксидаз D-аминокислот [140]

D-Аминокислоты	Скорость окисления[а]		
	β-углерод	почки овцы	почки свиньи
Изолейцин	D	9,3	14,8
алло-Изолейцин	L	5,4	5,9
алло-Треонин	D	9,7	2,6
Треонин	L	1,4	0,3
O-Метилтреонин	D	5,0	5,0
O-Метил-*алло*-треонин	L	2,3	4,5

[а] Скорость выражена в микромолях кислорода, поглощаемого в 1 *час* на 1 *мг* N при 38°.

рой. Такие обозначения конфигураций совпадают с данными, полученными с помощью оксидаз D-аминокислот. Так (см. табл. 45), окисление D-изолейцина, D-*алло*-треонина и O-метил-D-треонина идет с большей скоростью, чем окисление соответствующих α-D-диастереомеров. Эти результаты полностью согласуются с принципом, согласно которому α-D-специфические оксидазы лучше действуют на соединения с β-D-конфигурацией, чем на соединения с β-L-конфигурацией. Поэтому тот факт, что скорость окисления O-метил-L-треонина, катализируемого оксидазой D-аминокислот, больше, чем скорость окисления D-*алло*-формы, полностью соответствует и может быть предсказана на основании данных, полученных с оксидазой L-аминокислот. Отсюда следует, что конфигурации β-центров четырех стереомеров O-метилтреонина в большей степени сходны с конфигурациями четырех изомеров изолейцина, чем треонина. Все это показывает, что биологический метод позволяет приписать конфигурации β-центрам α,β-диасимметрических аминокислот, что оказывается невозможным на основе чисто структурных предпосылок.

Рентгеноструктурный анализ. В 1954 г. Троммель и Бижвут [433] определили абсолютную конфигурацию D-изолейцина в виде его бромгидрата методом рентгеноструктурного анализа, разработанным в 1951 г. Бижвутом, Пирдеманом и ван-Бомелем [14] (ср. с работой [434]). Полученные результаты согласуются с правилом Фишера — Розанова. Ранее рентгеноструктурный анализ был использован Троммелем [353] для изучения моногидрата хлористоводородного D-изолейцина и было показано, что метильная группа и аминогруппа находятся в *цис*-положении друг относительно друга, что подтверждало предшествующие выводы, сделанные на основе химических данных [354]. Пространственная модель молекулы, полученная в результате этих исследований, представлена на рис. 10.

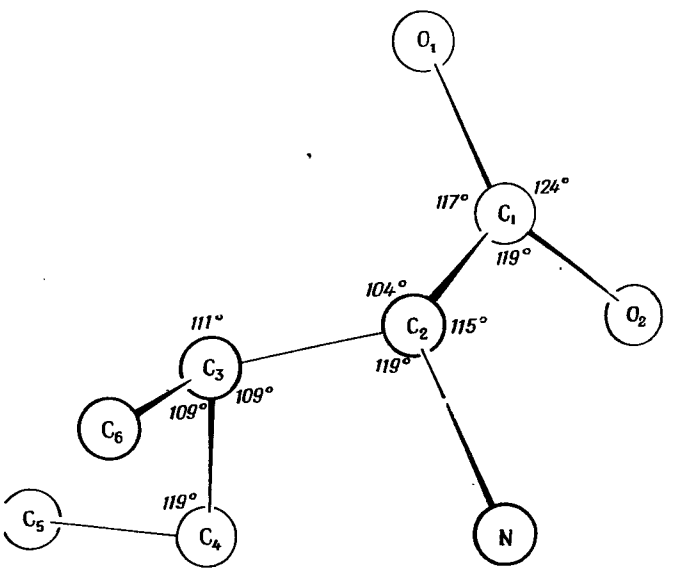
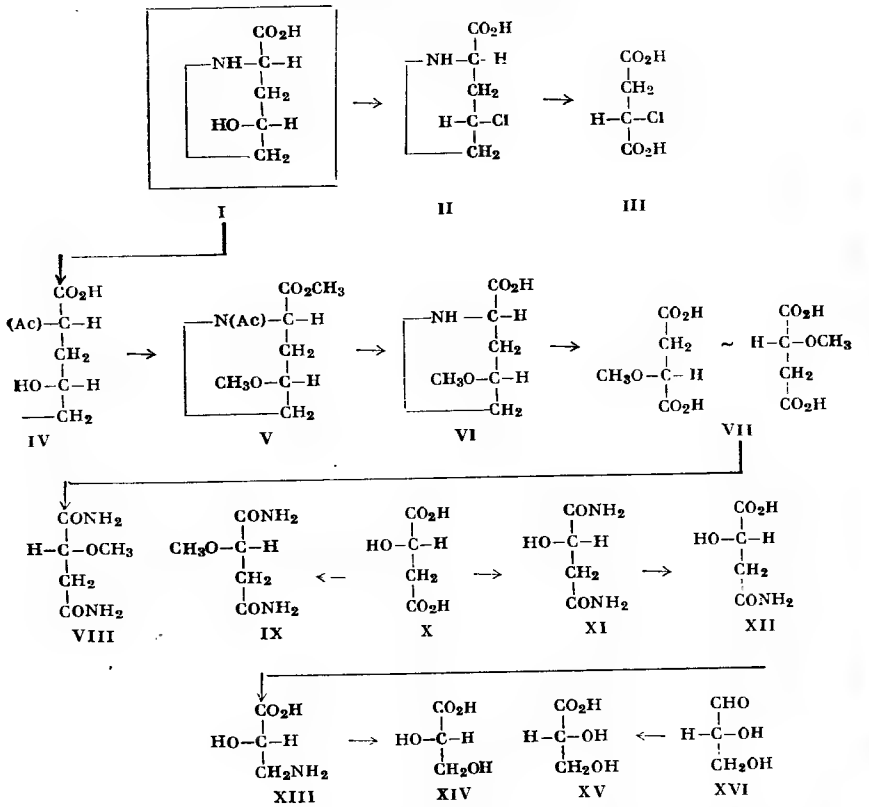


Рис. 10. Пространственная модель молекулы D-изолейцина·HCl·H_2O [353].

32. **Оксипролин.** *Химические корреляции.* В 1945 г. исследованиями Нейбергера [40] было завершено строгое доказательство конфигурации γ-асимметрического центра L-(—)-оксипролина. Почти за пять лет до этого Канэко [39], основываясь на превращении L-оксипролина (I) в γ-хлорпролин (II) и последующем окислении II до (—)-хлорянтарной кислоты (III) известной конфигурации, предложил для γ-центра этого соединения ту же конфигурацию, что и Нейбергер. Однако эти данные оставались в значительной степени сомнительными, поскольку не исключалась возможность вальденовского обращения исследуемого асимметрического центра на одной из стадий процесса. Исследование Нейбергера [40] заключалось в проведении ряда реакций таким образом, что ни разу не затрагивались связи асимметрического атома углерода. Последовательным N-ацилированием

КОРРЕЛЯЦИЯ АССИМЕТРИЧЕСКОГО γ-АТОМА УГЛЕРОДА L-ОКСИПРОЛИНА С D-ГЛИЦЕРИНОВЫМ АЛЬДЕГИДОМ [40]



и О-метилированием L-оксипролина (I) был получен метиловый эфир N-ацетил-γ-метокси-L-пролина (V). Омыление V и последующий кислотный гидролиз ацетиламинокислоты привел к γ-метоксипролину (VI), который при окислении перманганатом превращался в (+)-метоксиянтарную кислоту (VII). Последнюю, наконец, этерификацией и затем аминолизом превращали

в (+)-метоксисукцинамид (VIII). Амид (VIII) имел удельное вращение, равное по величине (но противоположное по знаку) соответствующему диамиду (IX), полученному Мак-Кензи и Смитом [435] из (—)-яблочной кислоты (X). Поскольку зависимость между (—)-яблочной (X) и (+)-глицериновой кислотами (XIV) была выяснена Фрейденбергом [10] путем, представленным на схеме формулами XI—XIV, а также установлена [9] корреляция (—)-глицериновой кислоты (XV) и D-глицеринового альдегида (XVI), конфигурация при γ-атоме углерода L-оксипролина была, таким образом, сведена к этому стандарту отнесений.

Хотя с помощью описанных корреляций было выяснено относительное пространственное расположение асимметрических α- и γ-атомов углерода как у D-, так и у L-оксипролина, они оказались пригодными для установления конфигурации α- и γ-асимметрических центров диастереомерных D- и L-*алло*-форм. Эта проблема была решена Нейбергером [40], осуществившим превращение L-(—)-оксипролина в диастереомерный (—)-*алло*-оксипролин инверсией конфигурации у γ-атома углерода. Поскольку инверсия протекала с сохранением конфигурации α-асимметрического центра, эти превращения позволили приписать левовращающей форме *алло*-оксипролина L-конфигурацию. Полученные данные позволяют выяснить конфигурации α- и γ-центров всех четырех стереомеров оксипролина. Описание реакций, с помощью которых было осуществлено взаимопревращение диастереомеров, будет дано ниже. Здесь же интересно отметить, что *алло*-оксипролину, выделенному Виландом и Виткопом [436] из фаллоидина — высокотоксичного пептида *Amanita phalloides*, на основе таких превращений можно приписать L-конфигурацию.

Как показано на рис. 11, стереоконфигурация L-оксипролина может быть изображена формулой XVII. Превращение структуры XVII в структуру типа XIX можно осуществить перемещением групп в тетраэдре, изображающем α-атом углерода XVIII, по *правилу перестановок* (раздел 3). Формулу XIX можно рассматривать как перспективное изображение структуры XVIII, а поэтому пирролидиновый цикл проецируется на плоскость, лежащую ниже плоскости бумаги и перпендикулярную ей. Такие перспективные формулы были введены [437] с целью наглядного изображения циклических структур углеводов. Проекции этого типа, использованные Хадсоном и Нейбергером [438] для антиподов оксипролина (XIX и XX), позволяют легко изобразить *транс*-расположение окси- и карбоксильной групп друг относительно друга. Сходным образом можно представить *цис*-расположение тех же групп в энантиомерах *алло*-оксипролина (XXI и XXII).

Хадсон и Нейбергер [438] суммировали данные предшествующих авторов по химической корреляции различных алкалоидов с оксипролином. Эти корреляции представлены на рис. 12, где соединения изображены перспективными формулами Дрю — Хаворта. Так, L- и D-антиподы пролина могут быть изображены формулами XXIII и XXIV, поскольку α-конфигурации этих соединений известны. В результате исследований Каррера и Видмера [439] перспективную формулу природной формы никотина (XXV) можно стерически связать с формулой L-пролина (XXIII); поэтому неприродная правовращающая форма никотина может быть изображена формулой XXVI. Здесь следует отметить, что хотя отсутствует какая-либо неопределенность в отношении пространственного расположения групп в XXIII и XXV, приписание последней D- или L-обозначений является вопросом номенклатуры и достаточно спорно, поскольку это соединение не содержит ни карбонила, ни карбоксильной группы. Основываясь на близком структурном сходстве XXV с N-метилпроизводным L-пролина, в который его можно превратить, по край-

ней мере в принципе, путем замещения остатка пиридина карбоксильной группой, следует сделать выбор в пользу L-обозначения. Такое превращение должно привести к образованию левовращающей гигриновой кислоты (XXVII). Последняя была получена N-метилированием L-пролина [440]. Сходным образом (—)-стахидрин (XXVIII), довольно широко распространенный в природе метилбетаин L-гигриновой кислоты, также можно химически коррелировать с XXIII [439]. Недавно Патчетт и Виткоп [441] выясни-

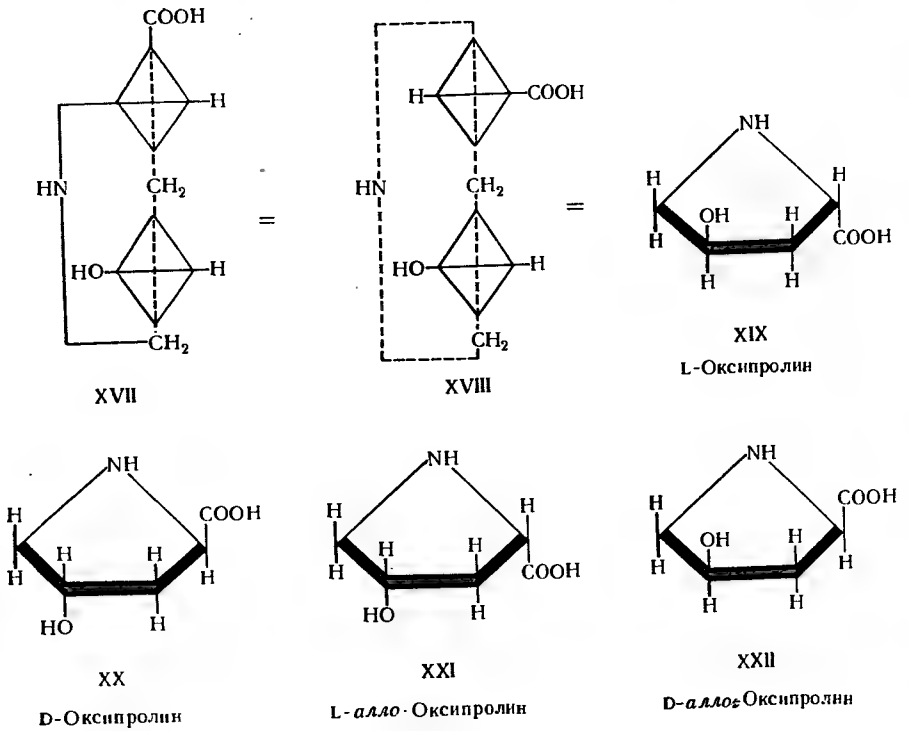


Рис. 11. Перспективные формулы стереоизомеров оксипролина.

ли стереохимию бетаинов оксипролина — бетоницина (XXIX) и турицина (XXX)— метилированием соответственно L-оксипролина (XIX) и D-*алло*-оксипролина (XXII).

Химические взаимопревращения. Метод, разработанный Нейбергером [40] для получения L-*алло*-форм оксипролина из его L-диастереомера, был позднее использован [143] для химических взаимопревращений четырех стереоизомерных форм оксипролина. Этот метод представлен на рис. 13. Вкратце он заключается в том, что L-оксипролин (XXXV) рацемизуют по C_2-центру в кипящей смеси ледяной уксусной кислоты и уксусного ангидрида. Полученное ацетильное производное гидролизуют кислотой до смеси эпимеров L-оксипролина (XXXV) и D-*алло*-оксипролина (XXXVI), из которой после многократной фракционной кристаллизации из водного этанола получают XXXVI с высокой степенью оптической чистоты. Ацетилирование XXXV и XXXVI приводит к соответствующим ацетиламинокислотам

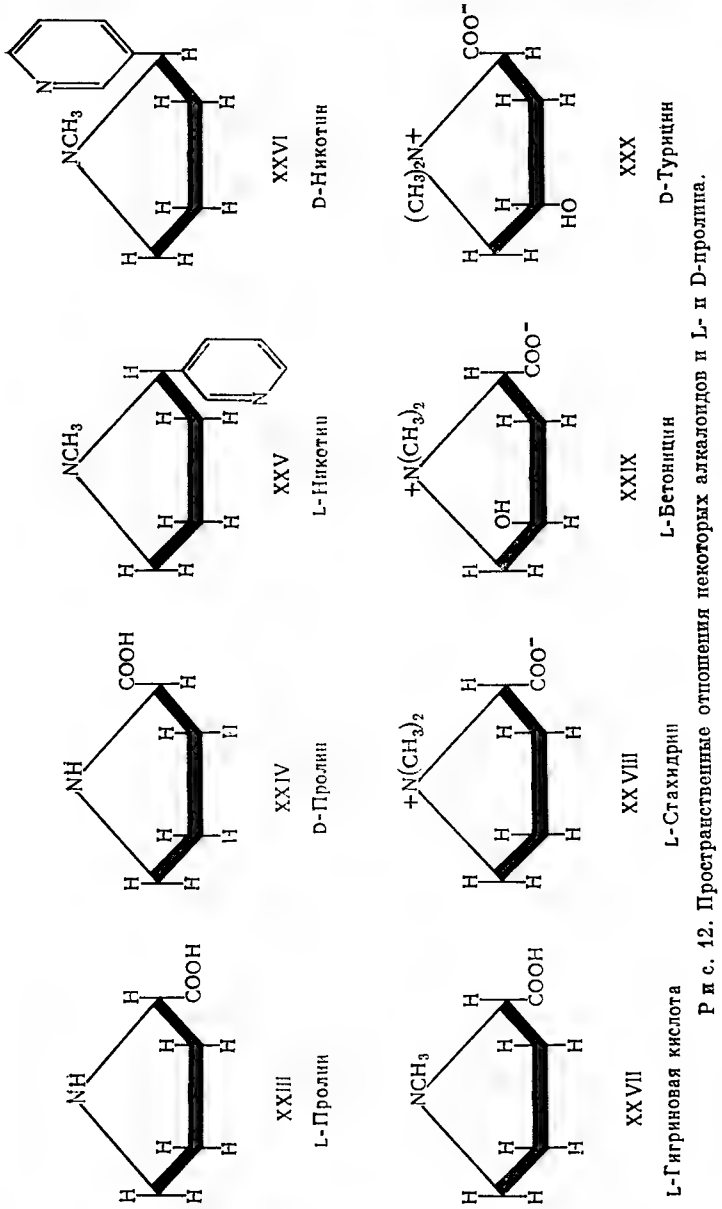


Рис. 12. Пространственные отношения некоторых алкалоидов и L- и D-пролина.

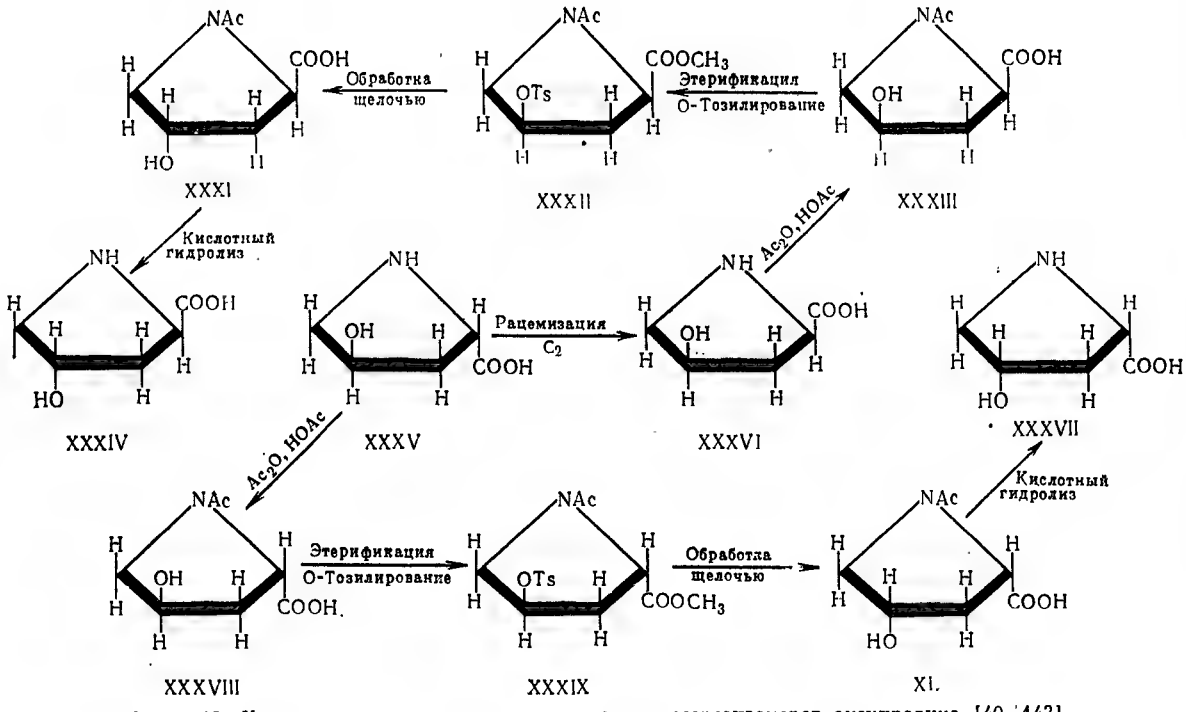


Рис. 13. Химические взаимопревращения четырех стереоизомеров оксипролина [40, 143].

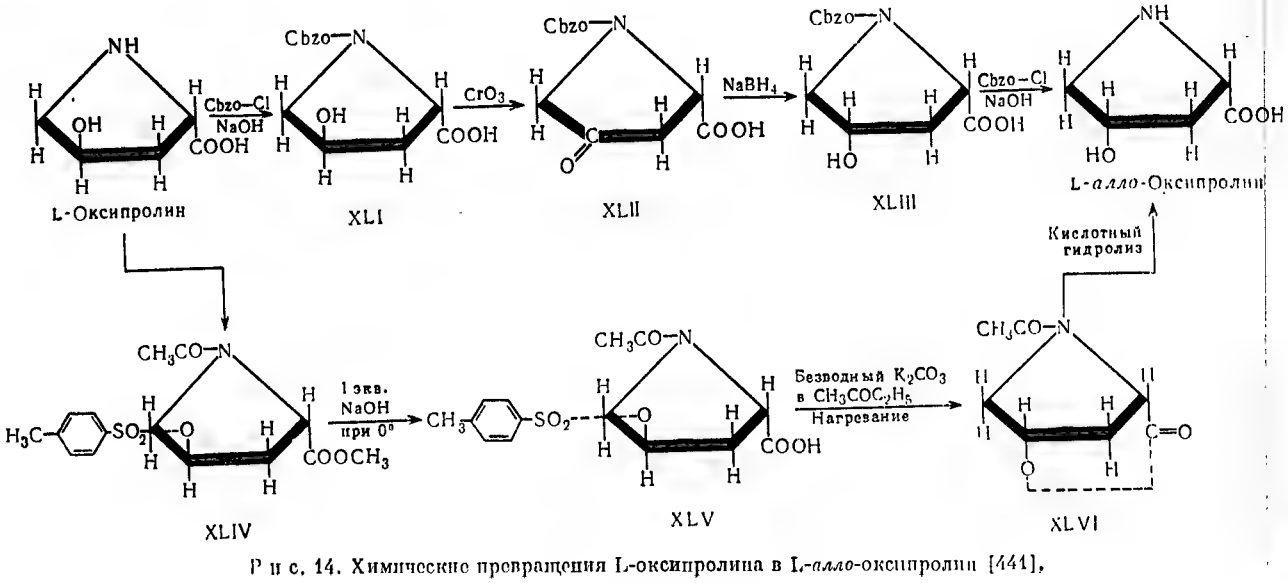
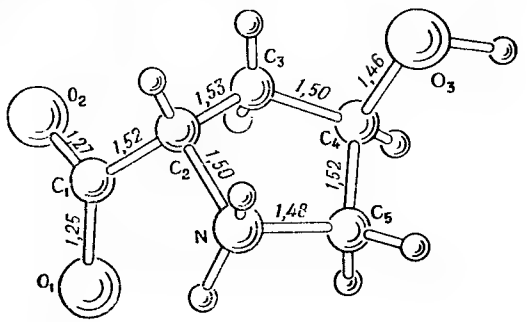


Рис. 14. Химические превращения L-оксипролина в L-*алло*-оксипролин [441].

(XXXVIII и XXXIII), которые этерификацией диазометаном и последующей обработкой *п*-толуолсульфохлоридом в пиридине превращают соответственно в XXXIX и XXXII. Оптическая инверсия осуществляется сплавлением со щелочью при высокой температуре полученных О-толуолсульфонилэфиров и приводит к XL и XXXI. Дальнейший кислотный гидролиз этих соединений позволяет получить соответственно L-*алло*-оксипролин (XXXVII) и D-оксипролин (XXXIV), чем и завершается, таким образом, цикл превращений. Патчетт и Виткоп [441] получили недавно L-*алло*-оксипролин довольно необычным путем — инверсией γ-асимметрического центра



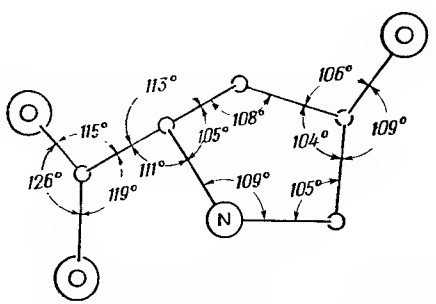


Рис. 15. Молекула оксипролина (приведены межатомные расстояния и валентные углы) [443].

L-оксипролина. Этот метод состоит в первоначальном превращении L-оксипролина в N-карбобензоксипроизводное (XLI), которое в свою очередь окисляют хромовой кислотой в L-4-кетопролин (XLII) (рис. 14). Восстановление последнего боргидридом натрия идет стереоспецифично и образуется исключительно L-*алло*-оксипролин в виде N-карбобензоксипроизводного (XLIII). Альтернативный способ инверсии, разработанный теми же авторами, заключается в превращении L-оксипролина в метиловый эфир N-ацетил-O-*п*-толуолсульфонил-L-оксипролина (XLIV) методом, изображенным на рис. 13 (см. формулы XXXV, XXXVIII, XXXIX). Омыление этого соединения одним эквивалентом щелочи при 0° приводит к соответствующей свободной кислоте (XLV). При обработке XLV безводным карбонатом калия в кипящем метилэтилкетоне происходит внутримолекулярная S_N2-реакция у C_4-центра с отщеплением *п*-толуолсульфонильного остатка и образованием N-ацетил-L-*алло*-оксипролиллактона (XLVI). Кислотный гидролиз этого лактона приводит к получению L-*алло*-оксипролина.

Рентгеноструктурный анализ. Определение структуры кристалла L-оксипролина методом дифракции рентгеновских лучей было независимо осуществлено Зусманом [442] и Донохью и Трубладом [443]. Диаграмма молекулы оксипролина, межатомные расстояния и валентные углы, определенные в результате этих исследований [443], представлены на рис. 15. Полученные данные свидетельствуют о *транс*-конфигурации карбоксильной и оксигруппы относительно цикла и, следовательно, подтверждают относительные конфигурации обоих асимметрических атомов, ранее установленные химически Хадсоном и Нейбергером [438].

33. γ-Оксиглутаминовая кислота. Это соединение — моноаминодикарбоновая кислота, которая из-за наличия двух центров асимметрии может существовать в четырех оптически активных формах или двух рацемических модификациях. Хотя она была выделена из растений Виртаненом и Хиетала [444], ни оптическое вращение, ни стереохимическая конфигурация природного продукта не определялись. Смесь двух рацематов γ-оксиглутаминовой кислоты получена Бенаутоном и Бутийе [445] синтетически, а позднее осуществлено [136] выделение чистых рацемических модификаций путем фракционной кристаллизации из концентрированной соляной кислоты. Менее растворимый рацемат был обозначен как форма А, а более растворимый — как форма В. Оба рацемата превращали в соответствующие хлорацетилпроизводные, L-формы которых подвергали далее стереоспецифическому энзиматическому гидролизу ацилазой I из почек свиньи [136]. Поскольку этот фермент L-специфичен, указанный процесс позволяет в конечном счете разделить четыре оптических изомера и приписать α-асимметрическим центрам этих изомеров L- или D-конфигурации. Индивидуальные стереомеры имеют следующие значения в воде: L-A, —22,3° D-A, +21,5°; L-B, -31,8°; D-B, —31,2°.

Определение конфигураций γ-асимметрических центров четырех изомеров γ-оксиглутаминовой кислоты было осуществлено превращением каждого из них в соответствующую α,α′-диоксиглутаровую кислоту дезаминированием азотистой кислотой [136]. Кинетическое изучение показало, что такое превращение α-аминокислоты в соответствующую α-оксикислоту идет по S_N1-механизму, причем из-за наличия стабилизирующего конфигурацию α-карбоксилат-иона не происходит ни инверсии конфигурации, ни заметной рацемизации (раздел 26). Поэтому можно утверждать, что α-конфигурация каждого из изомеров α,α′-диоксиглутаровой кислоты идентична конфигурации исходной α-аминокислоты. Оба изомера α,α′-диоксиглутаровой кислоты, соответствующие D- и L-антиподам γ-оксиглутаминовой кислоты А, имеют соответственно значения $[M]_D^{26}$ +31,4 и —30,9° (раствор Ba-солей в воде), тогда как оба изомера, отвечающие антиподам γ-оксиглутаминовой кислоты В, полностью лишены оптической активности. Эти данные позволяют установить γ-конфигурации каждой из стереомерных γ-оксиглутаминовых кислот.

Приписание конфигураций на основе вышеуказанных результатов легко объяснимо из рассмотрения проекций Фишера для четырех стереомеров γ-оксиглутаминовой кислоты и соответствующих им изомеров α,α′-диоксиглутаровой кислоты (рис. 16). Отсюда ясно, каким образом на основе приведенных выше данных был сделан выбор конфигурации для каждого соединения. Молекула диоксикислоты имеет два центра оптической асимметрии, и, кроме того, симметрична, так что из четырех теоретически возможных

изомеров лишь два образуют пару оптически активных зеркальных антиподов, а другие два из-за внутренней компенсации дают идентичные оптически неактивные *мезо*-формы. Поскольку дезаминирование антиподов А-формы γ-оксиглутаминовой кислоты приводит к диум оптически активным энантиомерам α, α′-диоксиглутаровой кислоты, α-амино- и α-оксигруппы

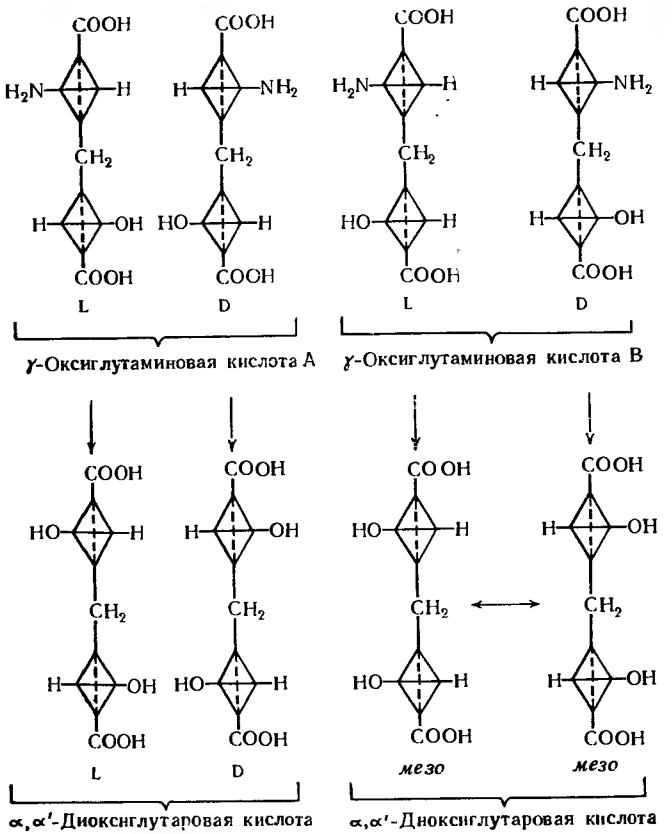


Рис. 16. Проекции четырех стереомеров γ-оксиглутаминовой кислоты и получающихся из них изомеров α, α′-диоксиглутаровой кислоты [136].

исходной аминокислоты должны иметь *транс*-расположение на проекционных формулах Фишера. С другой стороны, соответствующие функциональные группы энантиомерной В-формы должны занимать *цис*-положение, так как при дезаминировании они дают *мезо*-диоксиглутаровую кислоту. Зная конфигурации α-асимметрических атомов углерода каждого из стереомеров γ-оксиглутаминовой кислоты, установленные описанным ранее энзиматическим методом, можно определить теперь конфигурации γ-асимметрических центров этих соединений относительно L-серина и D-глицеринового альдегида — стандартов отнесения в ряду аминокислот и углеводов. γ-Асимметрическим центрам γ-окси-L-глутаминовой кислоты А и γ-окси-D-глутаминовой кислоты В следует приписать L_s-(или D_g)-конфигурацию, а соответствующим асимметрическим центрам их энантиомеров — D_s- (или L_g)-конфигурацию.

Приведенных выше данных оказывается достаточно для стереохимических корреляций каждого из изомеров γ-оксиглутаминовой кислоты с соответствующими изомерами γ-оксипролинов. Исследования, позволившие установить правильные формулы Фишера для изомеров оксипролина,

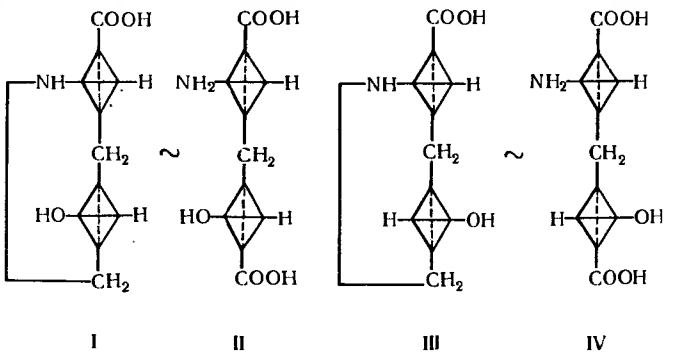


Рис. 17. Стереохимические отношения D- и L-*алло*-форм γ-оксипролина и соответствующих форм γ-оксиглутаминовой кислоты [136].

обсуждались в разделе 32. Как показано на рис. 17, L-оксипролину (I) конфигурационно соответствует γ-окси-L-глутаминовая кислота В(II), а L-*алло*-оксипролин(III) стереохимически эквивалентен γ-окси-L-глутаминовой кислоте А(IV). Имея это в виду, можно теперь исключить обозначения А и В для диастереомерных γ-оксиглутаминовых кислот, заменив их префиксами *алло*-, как это показано в табл. 46.

Таблица 46

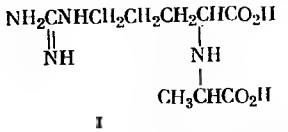
Конфигурационные обозначения и номенклатура изомерных γ-оксиглутаминовых кислот [136]

Изомер	Конфигурация γ-асимметрического центра	Рекомендуемое обозначение
γ-Окси-L-глутаминовая кислота А	L_s или D_g	*алло*-γ-Окси-L-глутаминовая кислота
γ-Окси-D-глутаминовая кислота А	D_s или L_g	*алло*-γ-Окси-D-глутаминовая кислота
γ-Окси-L-глутаминовая кислота В	D_s или L_g	γ-Окси-L-глутаминовая кислота
γ-Окси-D-глутаминовая кислота В	L_s или D_g	γ-Окси-D-глутаминовая кислота

Правда и Рудингер [43] осуществили прямое химическое превращение L-глутаминовой кислоты в L-пролин (раздел 7); это наводит на мысль о легкости аналогичных превращений каждого из стереомеров γ-оксиглутаминовой кислоты в соответствующие изомеры оксипролина. Поэтому целесообразно принять обозначения, приемлемые для обоих типов соединений.

34. 5-Оксипипеколиновая кислота. Это соединение можно рассматривать как ближайший высший гомолог γ-оксипролина. Как и это последнее соединение, он содержит два центра асимметрии и поэтому существует в четырех возможных стереомерных формах (I—IV, рис. 18). Эта иминокислота была почти одновременно открыта Виртаненом и Кари [446] в *Rhapis flabelliformis* и *Acacia* и Гроббеларом. Поллардом и Стюардом [447] в родезийском тике и финиках. Выяснение конфигурации α- и δ-центров иминокислоты, выделенной из фиников, было осуществлено в известной работе Виткопа и Фольца [132] с помощью ряда реакций, изображенных на рис. 18. Так, природную (—)-5-оксипипеколиновую кислоту (I) превращали в N-карбобензоксипроизводное (V) и затем окисляли вторичную спиртовую группу в кетогруппу хромовым ангидридом в водной серной кислоте. Восстановление полученной кетокислоты (VI) боргидридом натрия, как и в случае 4-кето-L-пролина (см. раздел 32), протекает стереоспецифично и приводит к карбобензоксиминокислоте (VII), в которой конфигурация δ-центра противоположна конфигурации соответствующего центра в N-карбобензоксипроизводном (V). Основанием для такого вывода послужило то, что V не реагирует с уксусным ангидридом при комнатной температуре, тогда как VII в аналогичных условиях образует соответствующий лактон карбобензокси-*алло*-окси-L-пипеколиновой кислоты (VIII). Отсюда можно сделать вывод, что оксигруппа и карбоксильная группа в природной (—)-5-оксипипеколиновой кислоте (I) занимают *транс*-положение относительно плоскости кольца, тогда как в (—)-*алло*-стереомере (III) эти группы занимают *цис*-положение. Определение α-конфигурации каждого из четырех стереомеров иминокислот было осуществлено измерением удельного вращения двух левовращающих форм в воде и в соляной (или бромистоводородной) кислоте. Поскольку сдвиг парциального молярного вращения при переходе от водных к кислым растворам оказался положительным (см. табл. 15, стр. 140), этим соединениям в согласии с *правилом парциальных сдвигов вращения* была приписана α-L-конфигурация. Следовательно, четыре изомера γ-оксипипеколиновой кислоты L-(I), L-*алло*-(III), D-(II) и D-*алло*-(IV) можно представить следующими формулами Дрю—Хаворта (рис. 18).

35. Октопин. Строение октопина — α,α′-имино-(карбоксиэтил)-δ-гуанидилвалериановой кислоты(I) — было установлено независимо Муром и Вильсоном [448] и Акаши [449] в 1937 г., спустя десять лет после того, как это соединение выделил Моризава из мышц осьминога [450]. Октопин, у которого асимметрические α- и α′-атомы связаны иминогруппой, можно рассматривать как продукт конденсации молекулы аргинина и молекулы



I

аланина с отщеплением молекулы аммиака. Поскольку природное вещество содержит два асимметрических центра, оно должно быть одним из четырех возможных стереоизомеров. Синтез природного, правовращающего изомера осуществлен в 1937 г. Акаши [449] взаимодействием L-аргинина и L-α-бромпропионовой кислоты. Из D-α-бромпропионовой кислоты получено диастереомерное правовращающее соединение, названное (+)-изооктопином. Если же исходить из DL-α-бромпропионовой кислоты, то образуется смесь эпимеров, из которой (+)-октопин может быть выделен в виде нерас-

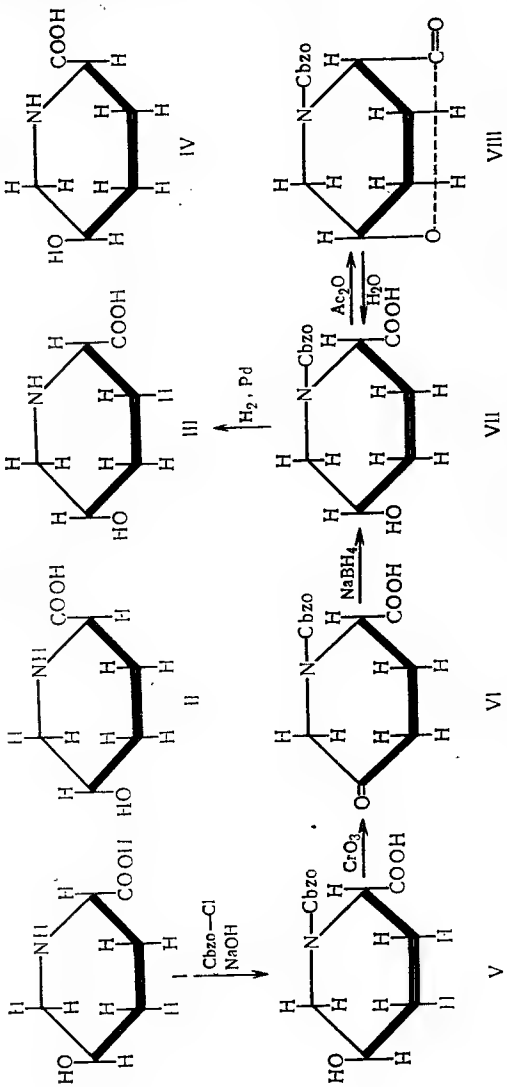


Рис. 18. Химические превращения 5-окси-L-пипеколиновой кислоты в 5-*алло*-окси-L-пипеколиновую кислоту [132].

творимого пикрата. Очевидно, что аргининовая часть молекулы (+)-октопина и (+)-изооктопина имеет L-конфигурацию, поскольку в ходе реакции не затрагиваются связи α-атома углерода. Однако, поскольку замещение атома брома в α-бромпропионовой кислоте α-аминогруппой аргинина сопровождается разрывом связи у асимметрического атома, нельзя сделать каких-либо выводов относительно конфигурации аланиновой части молекулы.

Первоначальные попытки выяснить конфигурацию аланиновой части молекулы (+)-октопина путем изучения сдвига вращения при изменении pH привели к неправильным выводам. Применение *правила Клафа — Луца—Иргенсонса* (раздел 41) при изучении зависимости оптического вращения (+)-октопина от величины pH дало основание Акаши [449] приписать аланиновой части молекулы L-конфигурацию. Однако в дальнейшем Хербст и Сварт [451], используя ту же методику, пришли к другим результатам, а именно что эта часть молекулы имеет D-конфигурацию. Это противоречие было позднее решено применением кинетических методов и методов дисперсии оптического вращения [452]. Дисперсия оптического вращения (+)-октопина и (+)-изооктопина определялась при длинах волн от 365 до 589 *ммк* как в воде, так и в 5 н. HCl. Парциальные вращения асимметрических центров вычислены из данных эксперимента для каждого использованного значения длины волны методом, описанным выше (раздел 11). Определение характера дисперсии и величин λ_0 асимметрических центров с помощью одночленного уравнения Друде показало, что аргининовая часть молекулы (+)-октопина, а также аргининовая и аланиновая части (+)-изооктопина обладают нормальной положительной дисперсией и значением λ_0 выше 200 *ммк*, что, согласно модифицированному правилу Паттерсона — Броде, характерно для L-конфигурации (см. раздел 13); однако аланиновая часть (+)-октопина имеет нормальную отрицательную дисперсию и значение λ_0 выше 200 *ммк*, что присуще D-конфигурации.

Однозначное подтверждение правильности этих конфигураций получено кинетическими измерениями, которые показали, что реакция L-аргинина и L-α-бромпропионовой кислоты, приводящая к (+)-октопину, идет по S_N2-механизму с вальденовским обращением (раздел 26).

Таблица 47

Конфигурационные обозначения и номенклатура изомерных октопинов [452]

Старое название	Конфигурация радикала		Современное название
	аргинин	аланин	
(+)-Октопин (природн.)	L	D	D-Октопин
(—)-Октопин	D	L	L-Октопин
(+)-Изооктопин	L	L	L-*алло*-Октопин
(—)-Изооктопин	D	D	D-*алло*-Октопин

В табл. 47 приведены обозначения конфигураций каждого из четырех изомеров октопина, выведенные на основе изложенных выше исследований [452]. В соответствии с современными правилами номенклатуры аминокислот (гл. 1) обозначается конфигурация наименьшего из двух остатков аминокислот, т. е. конфигурация аланиновой части молекулы. Префикс

алло используется вместо ранее применявшегося префикса *изо*. Таким образом, природный (+)-октопин сейчас обозначается как D-октопин.

36. Аминотрикарбаллиловая кислота. Это соединение является моноаминотрикарбоновой кислотой, содержащей α- и β-центры асимметрии, и поэтому существует в четырех стереоизомерных формах. Интерес к этой аминокислоте обусловлен ее близким сходством с изолимонной кислотой, а также тем обстоятельством, что это единственная до сих пор не найденная

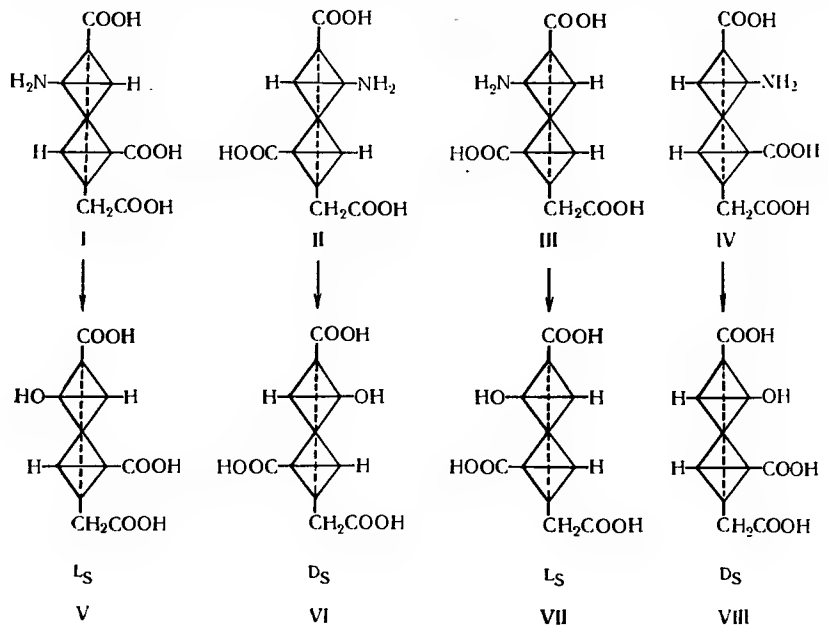


Рис. 19. Проекции четырех стереоизомеров α-аминотрикарбаллиловой кислоты и образующихся из них изомеров изолимонной кислоты.

в природе аминокислота, кетоаналог которой участвует в цикле трикарбоновых кислот. Синтез аминотрикарбаллиловой кислоты приводит к смеси двух рацемических модификаций, которые можно разделить и затем расщепить на соответствующие оптические антиподы. Наконец, четыре стереоизомерные аминокислоты (I—IV) могут быть превращены в соответствующие изолимонные кислоты (V—VIII) дезаминированием азотистой кислотой [453]. Эти превращения изображены на рис. 19. Исходя из общепринятого допущения, что превращение с помощью азотистой кислоты α-аминокислот в α-оксикислоты не приводит к изменению конфигурации (раздел 26), можно установить α-конфигурацию данного изомера изолимонной кислоты, если будет известна конфигурация исходного изомера аминотрикарбаллиловой кислоты.

α-Конфигурация алло-аминотрикарбаллиловой кислоты. Поскольку четыре стереомера аминотрикарбаллиловой кислоты получают разделением с помощью алкалоидов, прямые доказательства конфигурации индивидуаль-

ных антиподов отсутствуют. Более того, сведения об α-конфигурации этих антиподов нельзя получить ни стереоспецифическим действием оксидазы L-аминокислот (из *Crotalus adamanteus*), оксидазы аспарагиновой кислоты и оксидазы из *Neurospora* на свободные аминокислоты, ни действием ацилазы I из почек свиньи на их хлорацетильные производные, так как в каждом случае субстрат оказывается нечувствительным к энзиматическому действию. Однако конфигурация этих соединений может быть выяснена применением к ним правила парциальных сдвигов вращения [124].

Высокая степень надежности, с которой правило парциальных сдвигов вращения можно использовать для установления конфигураций α-аминокислот, содержащих более одного асимметрического центра, уже обсуждалась ранее (раздел 11). Тем не менее следует напомнить, что это правило применимо лишь для установления конфигурации α-асимметрического атома углерода, а не каких-либо других центров асимметрии, имеющихся в молекуле. С помощью соответствующих расчетов оптическое поведение α-асимметрического центра α-амино- или α-оксикислоты с двумя центрами асимметрии можно установить в том случае, если имеются надежные данные оптического вращения, по крайней мере для одного антипода из каждой пары диастереомеров. В случае стереоизомерных аминотрикарбаллиловых кислот таких данных достаточно, чтобы установить конфигурацию при α-атоме углерода обоих антиподов *алло*-формы. Используя, кроме того, данные, полученные для изомеров изолимонной кислоты, можно приписать конфигурацию не только антиподам второй пары диастереомеров, но и четырем стереомерам изолимонной кислоты. Ниже мы покажем на конкретном примере, как оптические данные могут быть использованы для выяснения стереохимии диасимметрических α-аминокислот неизвестной конфигурации [124].

С этой целью будем считать, что конфигурационные обозначения четырех стереомеров аминотрикарбаллиловой кислоты неизвестны. Тогда правильное обозначение пары L,L-*алло*-диастереомеров должно отвечать одной из следующих четырех возможных комбинаций: *l,l-алло*; *d,l-алло*; *l,d-алло* или *d,d-алло*, где *d* и *l* означают соответственно право- и левовращающие формы. В табл. 48 приведены вычисленные значения парциального молярного вращения в воде и 5 н. HCl для α- и ω-асимметрических центров каждой из этих четырех возможных комбинаций [124]. Поскольку значения $\alpha_{HCl} - \alpha_{H_2O}$ для *l,l-алло* и *d,l-алло*-комбинаций (A и B, табл. 48) являются отрицательными, то на основании правила сдвигов парциального вращения они не могут отвечать L,L-*алло*-соединениям. Значения $\alpha_{HCl} - \alpha_{H_2O}$ для пар *l,d-алло* и *d,d-алло* положительны и поэтому их нельзя не учитывать (C и D, табл. 48). Однако следует отметить, что *d-алло*-стереомер содержится в обоих парах и поэтому именно он должен иметь L-*алло*-конфигурацию ($[M]_D^{25}$ +14,3°; 0,5%, в воде), тогда как D-*алло*-форма является его D-*алло*-энантиомером. Эти вычисления еще не позволяют приписать конфигурацию *d*- и *l*-антиподам аминотрикарбаллиловой кислоты. Однако аналогичные вычисления для изомеров изолимонной кислоты позволяют сделать выбор и в этом случае.

α-Конфигурация стереоизомеров изолимонной кислоты и ее производных. Вычисления парциального молярного вращения α- и β-асимметрических центров, подобные тем, которые использовались в случае аминотрикарбаллиловой кислоты, столь же хорошо применимы и для L- и L-*алло*-стереоизомеров изолимонной кислоты, молярное вращение которых, а также их тринатриевых солей известно. В этом случае положительное значение разности $\alpha_{H_2O} - \alpha_{соль}$ указывает на L-конфигурацию (раздел 26). Здесь следует

Таблица 48

Вклад асимметрических α- и β-атомов углерода в молярное вращение[a] диастереоизомерных α-аминотрикарбаллиловых и изолимонных кислот [124]

Аминотрикарбаллиловая кислота		$[M]_D^{25}$, градусы		Молекулярное вращение							
		в H_2O	в 5 н. HCl	α в H_2O	α в 5 н. HCl	$\alpha_{HCl} - \alpha_{H_2O}$	β в H_2O	β в 5 н. HCl	$\beta_{HCl} - \beta_{H_2O}$	$(\alpha_{HCl} - \alpha_{H_2O}) + (\beta_{HCl} - \beta_{H_2O})$
A	*l*-	−62,7	−91,8	−38,5	−80,7	−42,2	−24,2	−11,1	+13,1	−29,1
A	*l-алло*	−14,3	−69,6	−38,5	−80,7	−42,2	+24,2	+11,1	−13,1	−55,3
B	*d*-	+62,7	+91,8	+24,2	+11,1	−13,1	+38,5	+80,7	+42,2	+29,1
B	*l-алло*	−14,3	−69,6	+24,2	+11,1	−13,1	−38,5	−80,7	−42,2	−55,3
C	*l*-	−62,7	−91,8	−24,2	−11,1	+13,1	−38,5	−80,7	−42,2	−29,1
C	*d-алло*	+14,3	+69,6	−24,2	−11,1	+13,1	+38,5	+80,7	+42,2	+55,3
D	*d*-	+62,7	+91,8	+38,5	+80,7	+42,2	+24,2	+11,1	−13,1	+29,1
D	*d-алло*	+14,3	+69,6	+38,5	+80,7	+42,2	−24,2	−11,1	+13,1	+55,3
Изолимонная кислота		$[M]_D^{22}$, градусы								
		в H_2O	Na-соль в H_2O	α в H_2O	$\alpha_{соль}$ в H_2O	$\alpha_{H_2O} - \alpha_{соль}$	β в H_2O	$\beta_{соль}$ в H_2O	$\beta_{H_2O} - \beta_{соль}$	$(\alpha_{H_2O} - \alpha_{соль}) + (\beta_{H_2O} - \beta_{соль})$
E	*l*-	−58,8	0	+3,8	+36,9	−33,1	−62,6	−36,9	−25,7	−58,8
E	*d-алло*	+66,4	+73,7	+3,8	+36,9	−33,1	+62,6	+36,9	+25,7	−7,4
F	*d*-	+58,8	0	+62,6	+36,9	+25,7	−3,8	−36,9	+33,1	+58,8
F	*d-алло*	+66,4	+73,7	+62,6	+36,9	+25,7	+3,8	+36,9	−33,1	−7,4

а) Оптическое вращение (в градусах) измерялось на фотоэлектрическом поляриметре с использованием трубки длиной 2 *дм*. Во всех случаях концентрация равна 0,5–1,0%.

отметить, что полученные ранее данные о конфигурации антиподов *алло*-аминотрикарбаллиловой кислоты позволяют обозначить конфигурации α-центров изомеров *алло*-изолимонной кислоты, поскольку последние получаются из первых действием азотистой кислоты. Поэтому α-асимметрическому центру *d-алло*-изолимонной кислоты можно приписать L-конфигурацию. Далее, можно утверждать, что обозначение L,L-*алло* пары диастереомеров изолимонной кислоты отвечает или *l,d-алло*- или *d,d-алло*-комбинации (E и F, табл. 48). Значения $\alpha_{H_2O}-\alpha_{соль}$ для каждой из этих пар положительны и, следовательно, последняя пара должна иметь α-L-конфигурацию. Таким образом, то обстоятельство, что *d*-изолимонной кислоте (природной) можно приписать L_s-конфигурацию, в свою очередь позволяет приписать α-L-конфигурацию левовращающему стереомеру аминотрикарбаллиловой кислоты и α-D-конфигурацию — его правовращающему энантиомеру. Следовательно, становится известной конфигурация α-асимметрических центров всех четырех изомеров аминотрикарбаллиловой и изолимонной кислот, а также образующихся из них соответственно пирролидондикарбоновых кислот и лактонов изолимонной кислоты (см. табл. 49).

Таблица 49

Молекулярное вращение L-антиподов аминотрикарбаллиловой кислоты, изолимонной кислоты и их производных [124]

L-Изомер	$[M]_D$, градусы[а]
Аминотрикарбаллиловая кислота	−62,7[б], −91,8[в], +9,6[г]
алло-Аминотрикарбаллиловая кислота	+14,3[б], +69,6[в], +146,1[г]
Пирролидондикарбоновая кислота	−94,6[б]
алло-Пирролидондикарбоновая кислота	+100,3[б]
Изолимонная кислота	+58,8[б,д]
алло-Изолимонная кислота	+66,4[б,д]
Лактон изолимонной кислоты	−105,7[б]
Лактон *алло*-изолимонной кислоты	+70,9[б]
Тринатриевая соль изолимонной кислоты	0[б,е]
Тринатриевая соль *алло*-изолимонной кислоты	+73,7[б,е]

[а] Концентрации 0,5—1.0%.
[б] Водный раствор.
[в] Раствор в 5 н. HCl.
[г] Раствор в 1 н. NaOH.
[д] Тринатриевая соль нейтрализована 3 экв. HCl.
[е] Вычислено на основании данных для свободной кислоты.

β-Конфигурация аминотрикарбаллиловых и изолимонных кислот. Относительная разница между значениями pK_1 и pK_2, проявляемая соседними карбоксильными группами, связанными с циклом или расположенными у двойной связи, является основой классического метода различения *цис*- и *транс*-конфигураций [454]. Так, заметная разница между pK_1 и pK_2 у *цис*-изомеров, являющаяся следствием взаимодействия близко расположенных

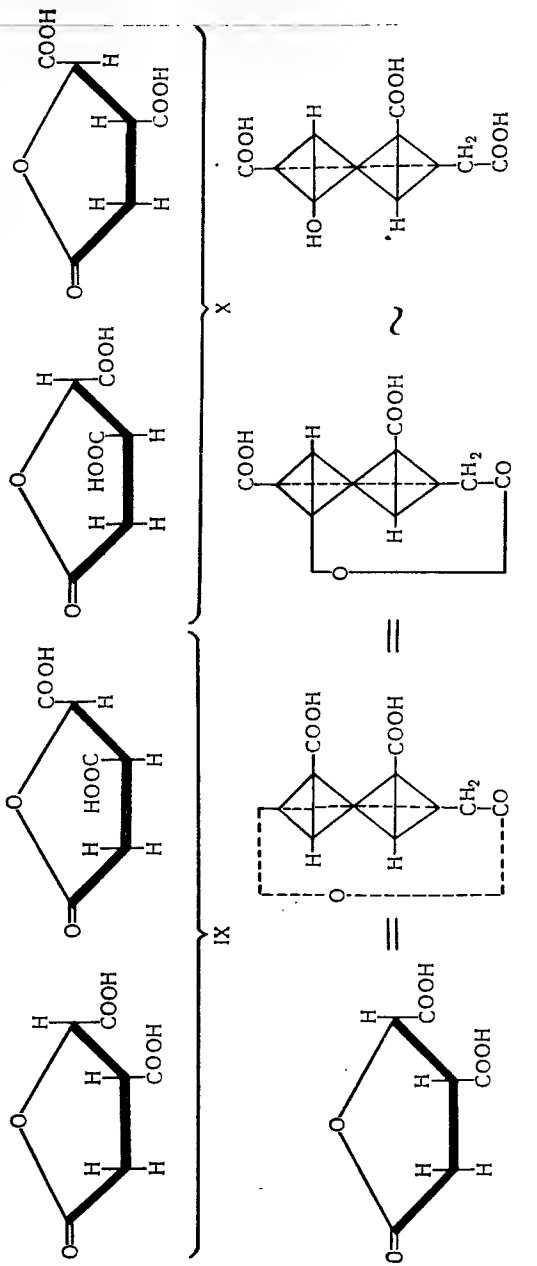


Рис. 20. Пространственные соотношения α- и β-асимметрических атомов углерода в лактоне изолимонной кислоты.

карбоксильных групп, позволяет отличить этот изомер от *транс*-формы. Этот метод был использован Гороном и Глейдом [455] для выяснения пространственных отношений между α- и β-центрами асимметрии двух рацемических модификаций лактона изолимонной кислоты (IX и X). Эти модификации представлены формулами Дрю — Хаворта на рис. 20. Потенциометрическое титрование лактона DL-изолимонной кислоты дало значения pK_1' и pK_2' соответственно 2,26 и 4,50, тогда как для лактона DL-*алло*-изолимонной кислоты соответствующие значения оказались равными 2,13 и 3,95. Поскольку в первом случае pK_1' больше, чем pK_2', в 180 раз, а во втором — лишь в 65 раз, лактону изолимонной кислоты (IX) была приписана *цис*-конфигурация, а лактону *алло*-изолимонной кислоты (X) — *транс*-конфигурация.

Доказательство *цис*-конфигурации карбоксильных групп в лактоне DL-изолимонной кислоты (IX) позволило приписать α-L_s-антиподу этого соединения формулу XI. Изобразив это соединение соответствующей фишеровской проекцией, можно видеть, что β-асимметрический атом лактона α-L_s-изолимонной кислоты, а также свободной кислоты (Va) имеет D-конфигурацию. Это обозначение основывается, разумеется, на допущении, что β-карбоксильная группа эквивалентна заместителю типа β-оксигруппы треонина. Ранее было показано [124], что природная *d*-изолимонная кислота имеет α-L_s-конфигурацию, а следовательно, этот изомер следует изображать формулой Va. Очевидно, левовращающему изомеру изолимонной кислоты (VI) можно приписать α-D-β-L-конфигурацию, а правовращающей (VII) и левовращающей (VIII) формам *алло*-изолимонной кислоты — соответственно α-L-β-L- и α-D-β-D-конфигурации. Зная конфигурации α- и β-асимметрических центров четырех изомеров изолимонной кислоты, ее предшественникам — соответствующим изомерам аминотрикарбаллиловой кислоты — следует приписать идентичные конфигурации (I—IV).

37. β-Оксиглутаминовая кислота. Вопреки первоначальным утверждениям в настоящее время нет убедительных доказательств существования β-оксиглутаминовой кислоты в природе (гл. 1). Синтез аминокислоты приводит к смеси двух рацемических модификаций, которую фракционированием в виде подходящих производных удается разделить на два диастереоизомерных рацемата. Определение α- и β-конфигураций каждого из четырех стереоизомеров было осуществлено Канэко и его сотрудниками [456], которые разделили карбобензоксипроизводные этих рацематов методом асимметрического энзиматического синтеза. Инкубация рацемической карбобензокси-β-оксиглутаминовой кислоты с *п*-толуидином в подходящем буферном растворе и в присутствии папаина приводит к образованию и выделению из раствора нерастворимого *п*-толуидида карбобензокси-L-аминокислоты. Кислотный гидролиз L-толуидинов, полученных из обеих рацематов, дает соответствующие L-аминокислоты, обозначенные L-A- и L-B и имеющие значения $[\alpha]_D^{20}$ в 20%-ной HCl соответственно +30,8 и +18,8°. Выделение и последующий кислотный гидролиз карбобензокси-D-аминокислот из маточников ферментационной массы приводит к D-аминокислотам (D-A и D-B), имеющим значения $[\alpha]_D$ соответственно —27,2 и —18,5°.

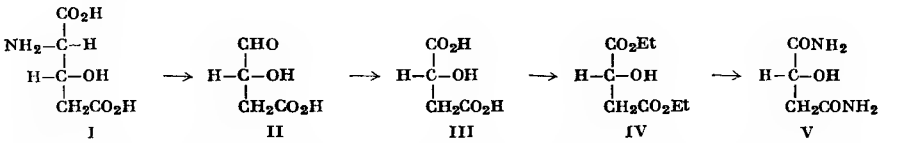
β-Конфигурации каждого изомера β-оксиглутаминовой кислоты были установлены путем ступенчатого окисления L-β-стереомера (I) сначала хлорамином T до полуальдегида яблочной кислоты (II) и затем до яблочной кислоты (III). Последовательная этерификация и аммонолиз соединения (III) приводит к правовращающей форме диамида яблочной кислоты (V). Поскольку для этого соединения была уже раньше установлена D-конфигурация

относительно глицеринового альдегида, L-B-форме следует приписать β-D-конфигурацию. Отсюда следует, что A- и B-формы обладают соответственно *эритро*- и *трео*-конфигурациями, что позволяет обозначить все центры изомерных β-оксиглутаминовых кислот (см. табл. 50).

Таблица 50

Обозначение конфигураций и номенклатура изомерных β-оксиглутаминовых кислот [456]

Изомер	Конфигурация		Рекомендуемое название
	α	β	
(+)-β-Оксиглутаминовая кислота A	L	L	*эритро*-β-Окси-L-глутаминовая кислота
(—)-β-Оксиглутаминовая кислота A	D	D	*эритро*-β-Окси-D-глутаминовая кислота
(+)-β-Оксиглутаминовая кислота B	L	D	*трео*-β-Окси-L-глутаминовая кислота
(—)-β-Оксиглутаминовая кислота B	D	L	*трео*-β-Окси-D-глутаминовая кислота

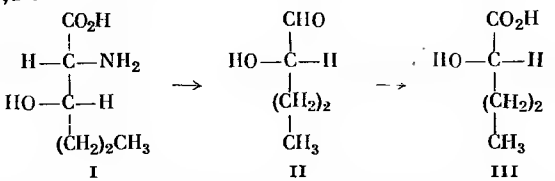


38. β-Оксинорлейцин. Адамс и Ниман [138] установили конфигурации при α- и β-атомах всех четырех стереомеров β-оксинорлейцина путем асимметрического ферментативного синтеза обоих рацематов α-бензамидо-β-метокси-*н*-капроновой кислоты. Последнюю получали бензилированием синтетической смеси эпимеров α-амино-β-метокси-*н*-капроновой кислоты (β-метоксинорлейцина) и последующей фракционной кристаллизацией продукта бензоилирования. Рацемические бензоилпроизводные затем разделяли инкубацией с *п*-толуидином в буферном растворе в присутствии папаина. При этом образовывались нерастворимые и легко выделяемые толуидиды бензоил-L-аминокислот. Затем из маточников выделяли неизменные бензоил-D-аминокислоты и каждое из четырех оптически активных соединений превращали в соответствующие оптически активные формы β-оксинорлейцина гидролизом концентрированной бромистоводородной кислотой. α-Конфигурации этих стереоизомерных аминокислот можно было надежно установить L-специфическим энзиматическим расщеплением. Подтверждение полученных при этом выводов было найдено применением правила парциальных сдвигов вращения (см. табл. 15, стр. 140).

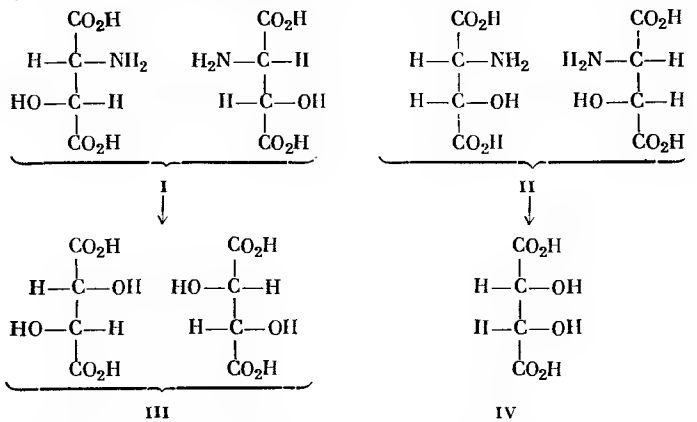
β-Конфигурации стереомеров β-оксинорлейцина определяли окислительным расщеплением [138]. Так, окисление β-окси-D-(—)-норлейцина (I; $[\alpha]_D^{25}$ —4,6° в воде) хлорамином T дает оптически активный альдегид (II), который при дальнейшем окислении бромной водой превращается в оптически активную α-окси-*н*-валериановую кислоту (III). Это соединение, выделенное в виде левовращающей Ba-соли, по данным, полученным ранее Левеном и Халлером [457], обладает L-конфигурацией, поскольку при подкислении раствора бариевой соли наблюдается положительный сдвиг оптического вращения (раздел 26). Отсюда можно сделать вывод, что исходная амино-

кислота (I) также имеет L-конфигурацию при α-атоме углерода и что α-амино- и β-оксигруппы имеют *трео*-конфигурацию друг относительно друга. Поэтому конфигурации каждого изомера β-оксинорлейцина можно обозначить следующим образом: L_s-*трео*, +4,6°; D_s-*трео*, —4,6°; D_s-*эритро*, +2,0°; L_s-*эритро*, —2,0°.

Приведенные здесь значения $[\alpha]_D$ измерялись в водных растворах. В соляной кислоте соответствующие значения $[\alpha]_D$ равны +18,6 —18,5, —27,4 и +27,1°.

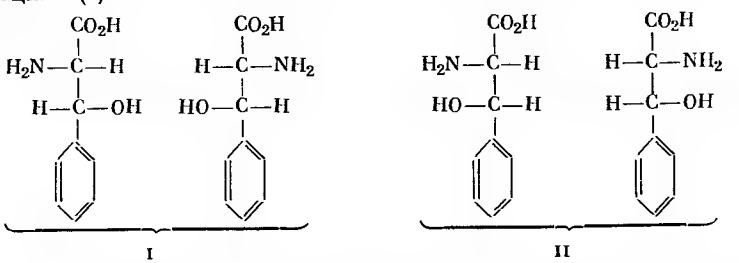


39. β-Оксиаспарагиновая кислота. Синтез и фракционное разделение обеих рацематов из смеси эпимеров β-оксиаспарагиновой кислоты осуществлено Дэкином [458] в 1921 г. Эти рацематы были обозначены как *пара*- и *анти*-оксиаспарагиновые кислоты (I и II). При дезаминировании азотистой кислотой они образуют соответственно DL-(III)- и *мезо*-(IV)-винные кислоты. Поэтому пространственные отношения заместителей при α- и β-асимметрических центрах каждого из рацематов можно представить следующими структурными формулами:

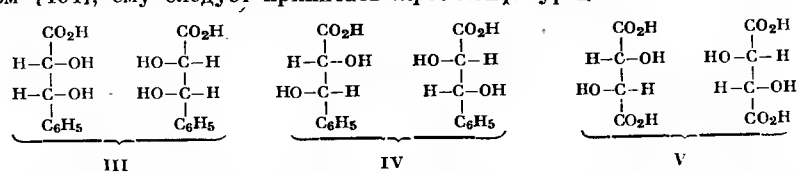


Согласно современным правилам номенклатуры, следует применять префиксы *трео* и *эритро*, вместо *пара* и *анти*. Хотя Дэкин [459] описал затем расщепление рацемической *анти*-оксиаспарагиновой кислоты (II) на два энантиомера со значениями $[\alpha]_D^{25}$ (в воде) —11,9 и +12,1°, его попытки выяснить α-конфигурации этих антиподов оказались безуспешными. Это было сделано позднее исследованиями Салаха [460, 461], который выделил (+)-*анти*-изомер ($[\alpha]_D^{25}$ +51°, в 1 н. HCl) в качестве одного из продуктов реакции энзиматического трансаминирования между эфирами L-глутаминовой и оксалилгликолевой кислот. Кроме того, он осуществил превращение этого изомера в *мезо*-винную кислоту действием азотистой кислоты. (+)-*анти*-Изомеру β-оксиаспарагиновой кислоты была приписана α-L-конфигурация на основании весьма вероятного допущения, что реакция трансаминирования стереохимически L-специфична. Отсюда следовало, что право- и левовращающие изомеры *анти*-кислоты являются соответственно *эритро*-β-окси-L- и *эритро*-β-окси-D-аспарагиновыми кислотами. Оптически активные изомеры *пара*- или *трео*-конформации до сих пор не описаны.

40. β-Фенилсерин. Из-за близкого структурного сходства, и, возможно, биогенетической связи с такими физиологически важными соединениями, как хлорамфеникол, адреналин, артернол и эфедрин, было потрачено много усилий при изучении путей синтеза, строения и свойств стереомеров β-фенилсерина. Синтез этого интересного соединения был впервые осуществлен Эрленмейером [462] в 1892 г. конденсацией глицина и бензальдегида в присутствии щелочного катализатора. Этот синтез привел к выделению лишь одного из двух теоретически возможных диастереомерных рацематов (I и II). Однако это обстоятельство в течение многих лет не привлекало внимания. В 1949—1950 гг. рядом независимых способов, изложенных ниже, было доказано, что диастереомер, выделенный Эрленмейером, имеет *трео*-конформацию (I).

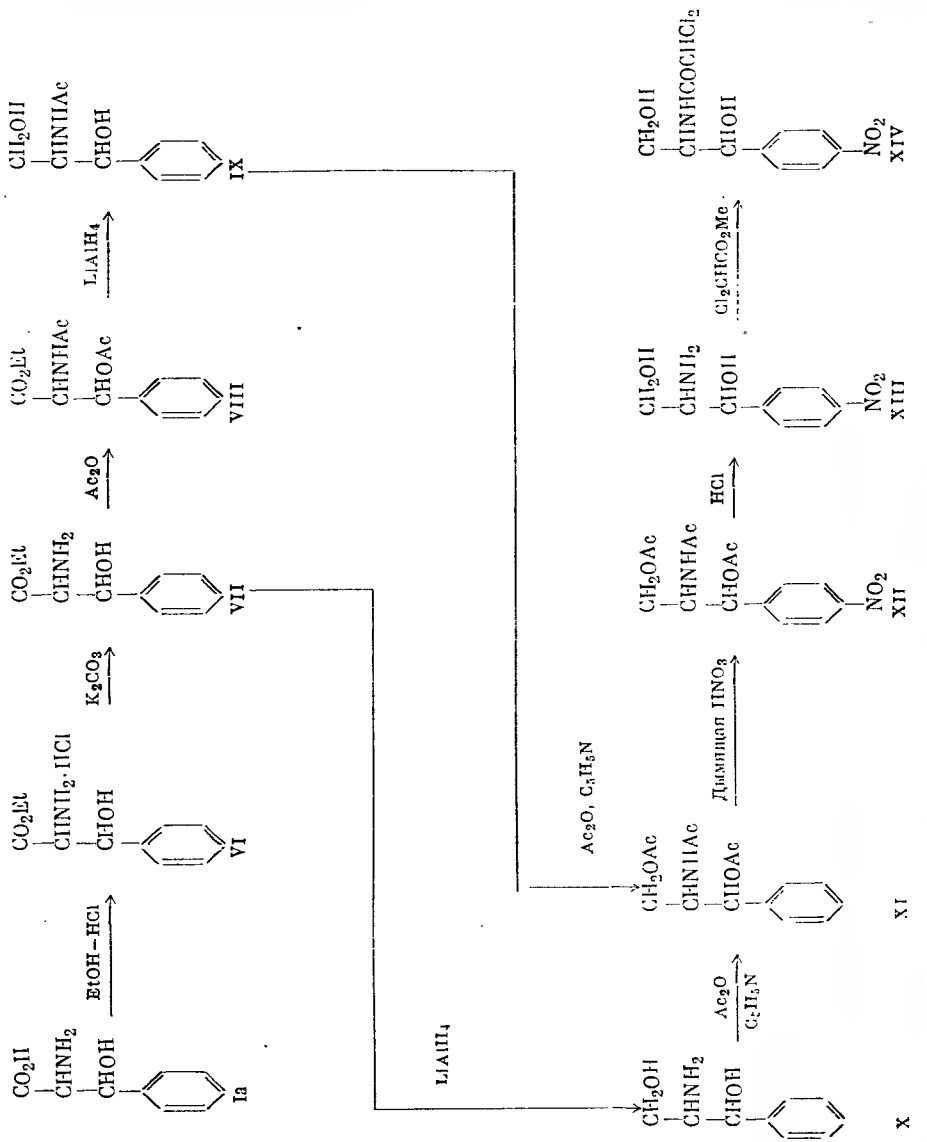


а) В 1950 г. Бильле [463] установил пространственное строение продукта, выделенного Эрленмейером, исходя из предположения, что дезаминирование аминокислоты азотистой кислотой до фенилглицериновой кислоты происходит без изменения конфигурации (раздел 26). Дезаминирование данной рацемической модификации β-фенилсерина дает один из двух возможных диастереомеров β-фенилглицериновой кислоты (III или IV). Поскольку аминокислота, использованная Бильле, превращается в IV, а этот же продукт ранее был сведен к DL-форме винной кислоты (V) Плёхлем и Майером [464], ему следует приписать *трео*-конфигурацию.

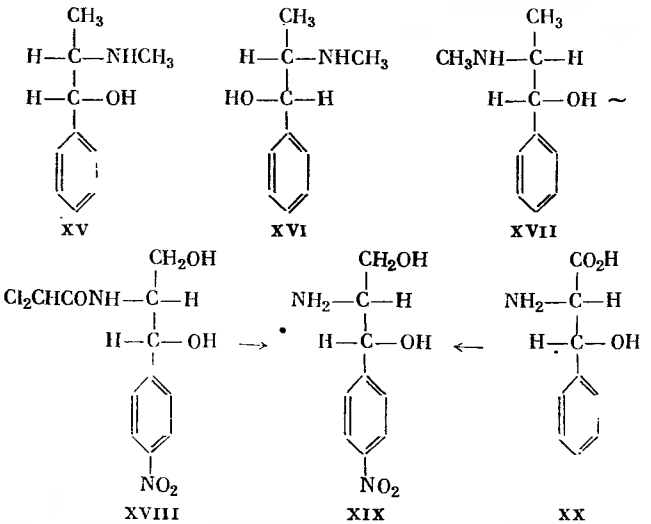


б) В 1949 г. Каррара и Вейтнауэр [465] превратили фенилсерин (Ia) Эрленмейера в *dl*-хлорамфеникол (XIV) рядом реакций по схеме на стр. 250.

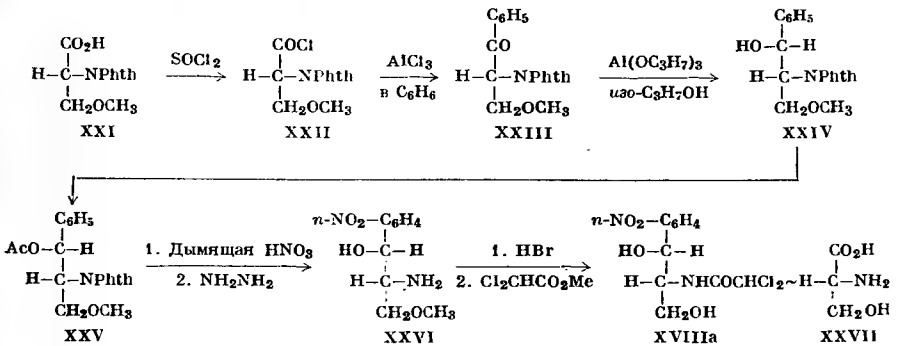
Это превращение идет через стадию образования ключевого промежуточного вещества 1-фенил-2-амино-1,3-пропандиола (X), которое использовали также для синтеза *d,l*-хлорамфеникола Контрулис, Ребсток и Крукс [466]. На основании предшествующих исследований [467], в ходе которых кислотным или щелочным гидролизом природного хлорамфеникола (XVIII; $[\alpha]_D^{27}$ +18,6°, в этаноле) был получен (—)-1-нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3 (XIX; $[\alpha]_D^{27}$ —23,1°, в метаноле), промежуточному продукту (X) была



приписана *трео*-конфигурация. Утверждение [467], что природный хлорамфеникол следует отнести к ряду *псевдо*-эфедрина, основано на направлении и величине изменений оптического вращения различных его производных (см. *правило сдвига*, раздел 25). Эти величины сравнивали с данными вращения, полученными ранее Нагаи и Канао [468] для соответствующих производных (—)-норэфедрина (XV) и (—)-нор-*псевдо*-эфедрина (XVII). Впоследствии правильность этой корреляции была подтверждена Фодором, Киссом и Саллаи [469], которые доказали стереохимическое сходство хлорамфеникола и нор-*псевдо*-эфедрина путем химических превращений. Поскольку (—)-норэфедрину (XV) и (+)-нор-*псевдо*-эфедрину (XVI) на основе химических превращений в синтетическое вещество известной конфигурации Фрейденберг и сотрудники [470, 471] ранее приписали соответственно *эритро*- и *трео*-конформации, то доказательства *трео*-конфигурации β-фенилсерина Эрленмейера можно считать в основном завершенными.



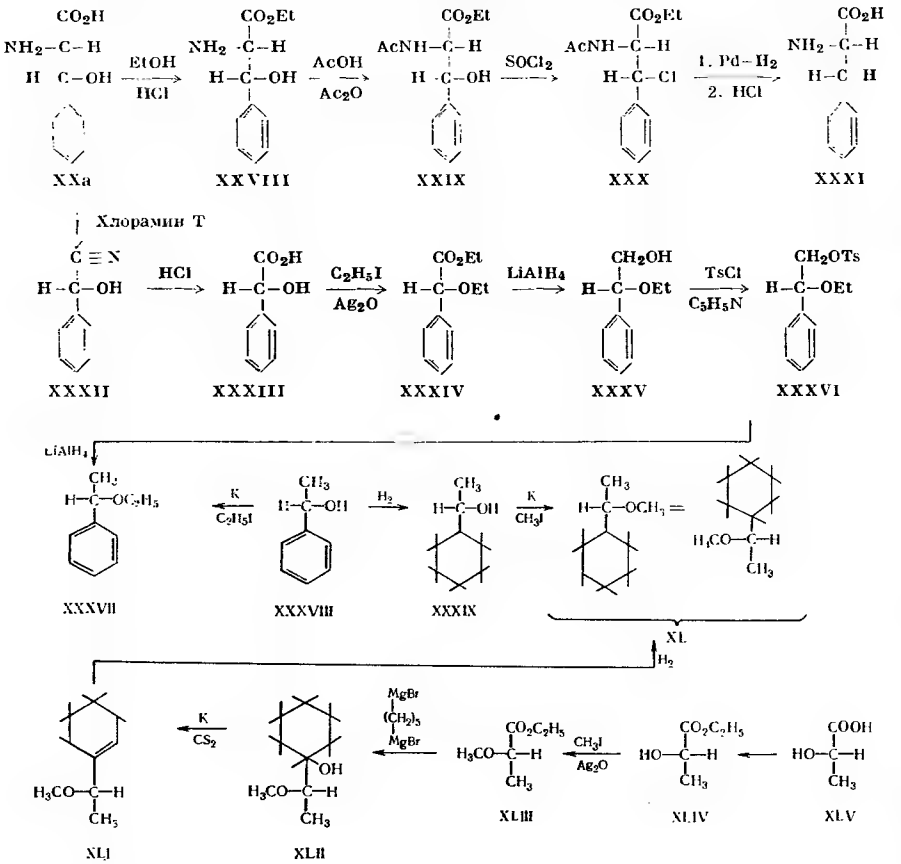
В связи с этим интересно отметить, что Хондзо [472] недавно превратил *трео*-β-фенил-D-серин в (+)-1-*п*-нитрофенил-2-амино-1,3-пропандиол —оптический антипод соединения XIX, выделенного ранее [467] при кислотном или щелочном гидролизе природного хлорамфеникола (XVIII). Это позво-



лило установить корреляцию конфигурации *трео*-β-фенил-L-серина (XX) с конфигурацией хлорамфеникола (XVIII). Наконец, более изящный способ корреляции конфигурации последнего соединения с D-серином (XXVII) был предложен Флешем и Баленовичем [473], получившими антибиотик (XVIIIa; $[\alpha]_D^{19}$ +17,9°, в этаноле) из О-метил-N-фталоил-D-серина (XXI) по схеме, приведенной на стр. 251.

Эти реакции согласуются с предшествующими доказательствами относительной конфигурации при C_2-атоме природного хлорамфеникола.

КОРРЕЛЯЦИЯ КОНФИГУРАЦИЙ α- И β-АССИММЕТРИЧЕСКИХ АТОМОВ УГЛЕРОДА *трео*-β-ФЕНИЛ-L-СЕРИНА

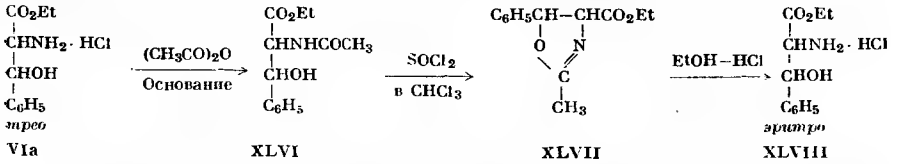


в) В 1950 г. Фёглер [474] не только подтвердил *трео*-конфигурацию фенилсерина, выделенного Эрленмейером, но также разделил это вещество и выяснил конфигурации при α- и β-асимметрических атомах углерода у каждого антипода. α-L-Конфигурация (—)-β-фенилсерина (XXa, $[\alpha]_D^{20}$ —32°, в воде) была установлена превращением этого соединения в L-фенилаланин (XXXI) следующим рядом реакций: этерификацией, N-ацетилированием, замещением β-оксигруппы атомом хлора при действии хлористого тионила,

каталитическим отщеплением галогена и, наконец, кислотным гидролизом (см. схему).

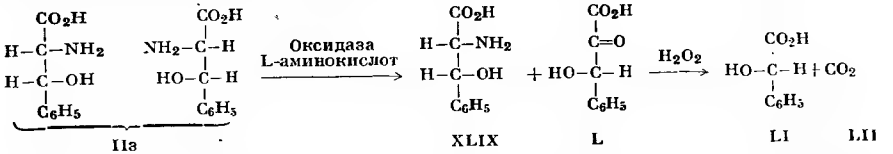
Выяснение β-конфигурации исходной аминокислоты (XXa) было осуществлено обработкой ее сначала хлорамином Т и затем кислотным гидролизом продукта расщепления (XXXII) до (—)-миндальной кислоты (XXXIII). Хотя эти корреляции были получены для левовращающей аминокислоты, сам опыт был проведен с правовращающим антиподом. Тем не менее, поскольку ранее на основании стереоспецифического действия биологических систем [234, 475], образования квазирацемических соединений [387, 476], относительной растворимости солей с алкалоидами [477] и оптического поведения [478—482] (—)-миндальной кислоте была приписана D-конфигурация, (—)-*трео*-β-фенилсерину (XXa) можно вполне обоснованно приписать α-L-β-D-конфигурацию, а его правовращающему антиподу — α-D-β-L-конфигурацию. В этой связи особенно примечательной является окончательная корреляция (—)-миндальной и D-(—)-молочной кислот, осуществленная недавно Мислоу [483], проведшим ряд реакций, необходимых для реализации синтетических переходов между соединениями, представленными формулами XXXIII и XXXIV [484], XXXIV и XXXVII [483], XXXVII и XXXVIII [485], XXXVIII и XXXIX [486, 487] и XXXIX и XLV [488]. Хотя экспериментально (—)-миндальная кислота (XXXIII) была сведена к L-(+)-молочной кислоте (XLV), обмен групп в ходе взаимопревращений требует приписания соединению XXXIII D-конфигурации.

Синтетический метод, разработанный Эрленмейером [462] и широко использованный затем исследователями, обычно приводит к нерастворимому *трео*-β-фенил-DL-серину с выходом примерно лишь 40%. Поэтому вплоть до 1950 г. предпринимались попытки обнаружить в маточниках присутствие еще и других продуктов. В 1950 г. в кратком сообщении Шоу и Фокса [489] было показано, что из этих маточников можно выделить *эритро*-форму аминокислоты, так как хлоргидрат ее этилового эфира относительно мало растворим. Это же производное было получено два года спустя Фонсом [490], который осуществил вальденовское обращение у β-атома углерода хлоргидрата этилового эфира *трео*-β-фенил-DL-серина (VIa). Соединение VIa превращали в N-ацетилпроизводное (XLVI), обрабатывали XLVI хлористым тионилом и разложением образующегося оксазолина (XLVII) соляной кислотой в этаноле получали ожидаемое соединение (XLVIII).

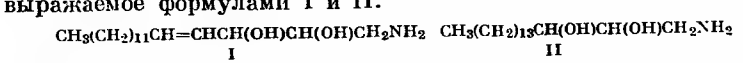


В основном тот же метод использован Болхофером [491] для того, чтобы превратить *эритро*-β-фенил-DL-серин в *трео*-форму. Фонс [492] показал, что продукт, полученный Шоу и Фоксом, несомненно имеет *эритро*-конформацию. Он подвергал свободную DL-аминокислоту L-стереонаправленному окислительному действию оксидазы L-аминокислот из яда гремучей змеи в отсутствие каталазы. В этих условиях α-кетокислота (L), полученная из чувствительного к окислению L-изомера, претерпевает под действием перекиси водорода декарбоксилирование до L-миндальной кислоты (LI; $[\alpha]_D$ +156°, в воде). Выделение этого продукта позволило доказать L-конфигурацию β-асимметрического центра α-L-антипода, а также установить *эритро*-конформацию исходного соединения (IIa). Сходные превращения

трео-фенил-DL-серина привели к выделению D-миндальной кислоты ($[\alpha]_D$ —151°, в воде) и, следовательно, подтвердили конфигурацию, приписанную Фёглером [474] β-атому углерода *трео*-β-фенил-L-серина на основе исследований химического расщепления. Разделение *эритро*-β-фенил-DL-серина в виде его трифторацетилпроизводного на антиподы с помощью L-стереонаправленного гидролитического действия панкреатической карбоксипептидазы, осуществленное в последних исследованиях Фонса [141], позволило впервые выделить и идентифицировать L- и D-*эритро*-антиподы (значения оптического вращения см. в табл. 15, стр. 140).

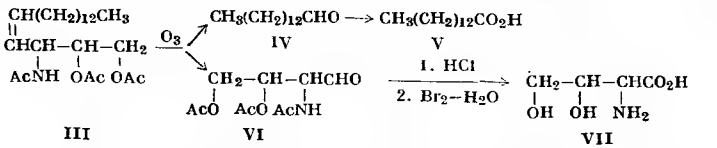


41. α-Аминокислоты, сходные со сфингозином. *Строение сфингозина.* Открытие сфингозина следует приписать Тадичаму [493], который в 1882 г. выделил это соединение из гидролизата цереброзида — френозина, описал ряд его солей и установил для свободного основания эмпирическую формулу $C_{17}H_{35}NO_2$. Обсуждая поведение этого соединения по отношению к кислотам и основаниям, Тадичам указал на то, что оно, возможно, имеет строение или аминокислоты, или основания алкалоида, причем последней структуре он отдавал некоторое предпочтение. В конце прошлого века Вёрнер и Тирфельдер [494] на основании легкости поглощения брома сфингозином пришли к выводу, что он является ненасыщенным соединением. Это было подтверждено двенадцать лет спустя обширными исследованиями Левена и Джекобса [495]. Эти исследователи пришли к заключению, что сфингозин является ненасыщенным моноаминодиоксиспиртом на основании следующих фактов: а) все атомы азота этого соединения находятся в форме первичных аминогрупп, б) он восстанавливается в присутствии палладиевого катализатора в насыщенное вещество, названное дигидросфингозином, и в) он способен давать как диметиловый эфир, содержащий свободные аминогруппы, так и триацетилпроизводное, аминофункции которого защищены. Окисление сфингозина хромовой кислотой, осуществленное Лэпуорсом [496] и Левеном и Уэстом [497], приводит к образованию алифатической кислоты, оказавшейся *н*-тридекановой кислотой. Аналогичное окисление дигидросфингозина Левеном и Уэстом привело к соединению, идентифицированному с *н*-пентадекановой кислотой. Однако температура плавления этих соединений не сравнивалась с температурами плавления аутентичных образцов. Расщепление сфингозина озонолизом двойной связи и последующее окисление содержащего азот фрагмента азотной кислотой приводят к веществу, экспериментально идентифицированному с *мезо*-винной кислотой [497]. Сумма этих данных, по-видимому, свидетельствовала, что сфингозин обладает нормальной цепью из 17 атомов углерода, содержащей аминогруппу, 2 оксигруппы и двойную связь между C_4 —C_5-атомами. Найдено, что амино- и оксигруппы связаны с первыми тремя атомами углерода цепи. На основании этих данных сфингозину и дигидросфингозину было приписано строение, выражаемое формулами I и II.

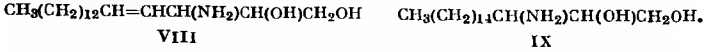


Дальнейшее изучение структуры сфингозина Кленком [498] в сотрудничестве с Диболдом [499] привело в 1929 г. к существенному пересмотру

предложенной ранее формулы. Так, повторение опытов по окислению сфингозина и дигидросфингозина хромовой кислотой не привело к получению тридекановой и пентадекановой кислот, как об этом сообщалось ранее, а дало соответственно миристиновую и пальмитиновую кислоты. С этими результатами согласовывались данные по озонолизу триацетилсфингозина (III); было получено два фрагмента, причем бóльший из них [миристиновый альдегид IV)] можно было окислить далее в миристиновую кислоту (V) [498]. Последующее выделение меньшего, содержащего азот фрагмента, и его дальнейший кислотный гидролиз и окисление бромной водой до α-амино-β,γ-диоксимасляной кислоты (VII; $[\alpha]_D^{13}$ —33,5°, в воде) позволило приписать этому фрагменту строение α-ацетамидо-β,γ-ацетоксимасляного альдегида (VI) [499]. Строение кислоты VII было выяснено на основании



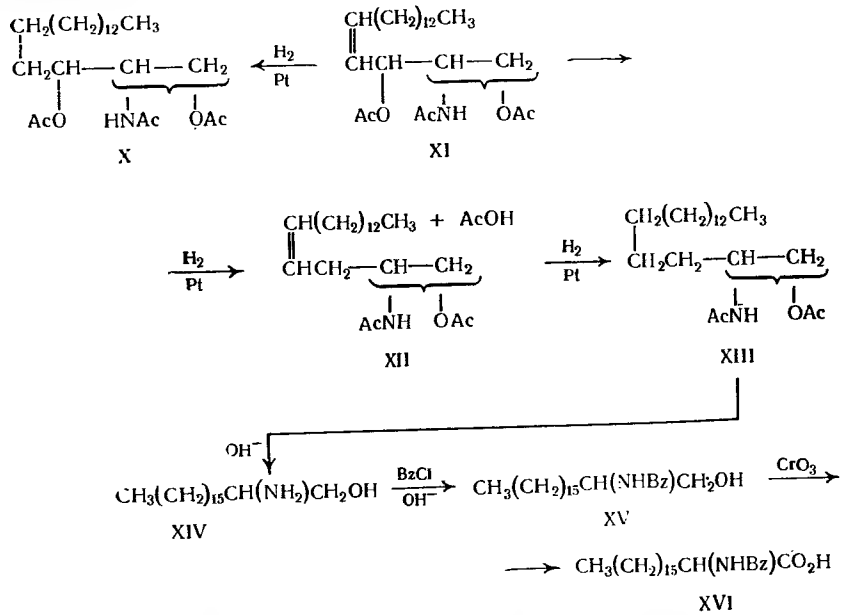
данных элементарного анализа и восстановления его иодистоводородной кислотой до вещества, имеющего тот же элементарный анализ и температуру плавления, что и DL-бутнрин. На основании этих наблюдений Кленк и Диболд [499] пришли к выводу, что триацетилсфингозину отвечает формула III, и предположили, что сфингозин и дигидросфингозин имеют прямую цепь из 18 углеродных атомов, а их структуры можно выразить формулами соответственно VIII и IX.



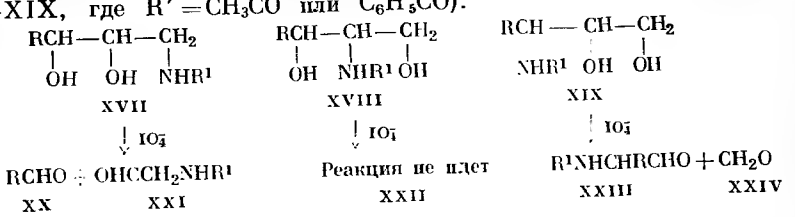
Несмотря на внешне весьма убедительные доводы в пользу формулы VIII для сфингозина, эта формула не согласуется с результатами двух последующих работ, выполненных одновременно в 1942 г. Картером, Гликом, Норрисом и Филлипсом [500] и Нимaном и Николсом [501]. В последней работе более определенным образом были высказаны серьезные сомнения относительно правильности выводов Кленка и Диболда [499] о нахождении амино- и двух оксигрупп при атомах углерода 1, 2 и 3. Так, косвенные данные Нимана и Николса [501] показали, что хорошо охарактеризованные образцы синтетических L_s-*трео*- и D_s-*эритро*-α-амино-β,γ-диоксимасляных кислот имеют значения $[\alpha]_D$ в воде соответственно +16,0 и —13,7°. Интерпретации Кленка и Диболда не согласовались с этими данными, так как изомер α-амино-β,γ-диоксимасляной кислоты, который они получили расщеплением сфингозина, обладал значением $[\alpha]_D$ —33,5° в воде. Значительно более прямые доводы против структуры VIII приведены в упомянутой работе Картера и его сотрудников [500], которые на основании данных по расщеплению природного вещества сумели доказать структуру сфингозина, принятую в настоящее время.

В ходе изучения каталитического восстановления триацетилсфингозина Картер впервые показал, что аминогруппа в сфингозине расположена не у атома углерода, соседнего с двойной связью, как это предполагали Кленк и Диболд. Установлено, что при этой реакции происходит не только отщепление 0,5—0,7 моля кислоты на 1 моль вещества, но и поглощение водорода в количестве на 50—80% большем, чем должно было бы поглощаться при восстановлении одной двойной связи. Это явление указывало на гидрогенолиз ацетоксигрупп, что характерно для аллильных систем

[502], но не для обычной неактивированной ацетоксигруппы. Отсюда следовало, что ацетоксигруппа занимает вицинальное положение по отношению к двойной связи в триацетилсфингозине (XI). Этот процесс можно описать как конкурентный между реакциями гидрирования и гидрогенолиза с образованием триацетилдигидросфингозина (X) с одной стороны, и диацетилсфингина (XIII) — с другой. Интересно отметить, что превращение диацетилсфингина (XIII) в (—)-бензоил-α-аминостеариновую кислоту (XVI) было осуществлено Картером и Хумистоном [504], которые гидролизовали XIII до свободного основания XIV, N-бензоилировали последнее и превращали образующийся N-бензоилсфингин (XV) в ациламинокислоту (XVI) окислением хромовой кислотой.



Определение относительного положения амино- и оксигрупп в сфингозине удалось произвести восстановлением N-ацетил- и N-бензоилсфингозинов до соответствующих производных дигидросфингозина и последующей обработкой полученных соединений иодной кислотой [500]. Следует вспомнить, что последний реагент окисляет 1,2-гликоли и 1,2-аминоспирты, но не реагирует с N-ацил- 1,2-аминоспиртами [503]. Поэтому с помощью этой реакции можно было выяснить относительное расположение трех функциональных групп, что видно из сопоставления трех возможных структур (XVII—XIX, где $R' = CH_3CO$ или C_6H_5CO):



Обработка N-ацилдигидросфингозинов периодатом не приводит к заметному окислению, откуда следует, что в соединении отсутствует 1,2-гликольная группировка. Это, а также данные [499] по расщеплению дигидросфингозина (XXV) иодной кислотой до пальмитинового альдегида (XXVI), муравьиной кислоты, аммиака и формальдегида, доказавшие, что сфингозин имеет цепь из 18 атомов углерода, позволили Картеру и его сотрудникам [500] приписать сфингозину формулу XXX, принятую в настоящее время.

$$CH_3(CH_2)_{12}CH{=}CHCH(OH)CH(NH_2)CH_2OH.$$
XXX

Конфигурация сфингозина. Подход к стереохимии молекулы сфингозина был открыт указанными выше превращениями сфингозина в оптически активную бензоил-α-аминостеариновую кислоту (XVI), осуществленными Картером и Хумистоном [504]. Поскольку свободная аминокислота нерастворима в воде и в разбавленных растворах кислот и щелочей, обычные методы изучения конфигурации с помощью сдвига вращения здесь не применимы. Тем не менее был создан особый метод, основанный на характеристическом сдвиге оптического вращения, которые претерпевают ациламинокислоты данной конфигурации при добавлении воды к их растворам в органических растворителях. Удельное вращение ряда ацилированных L- и D-аминокислот в безводных растворителях, а также в средах, содержащих 10—20% воды, найденное Картером и Хумистоном, приведено в табл. 51. Данные этой таблицы показывают, что имеется определенный сдвиг враще-

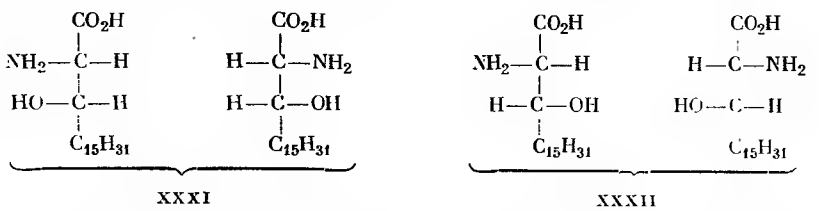
Таблица 51

Вращение ацилпроизводных аминокислот [504]

Ацилпроизводное	Растворитель	Удельное вращение $[\alpha]_D^{25}$, градусы		
		безводн.	10% воды	20% воды
Бензоил-L-аланин	Уксусная кислота	+24,2	+18,3	+14,5
	Диоксан	+19,6	+17,9	+16,0
Бензоил-D-аланин	Уксусная кислота	—23,8	—18,0	—14,2
	Диоксан	—19,3	—17,7	—16,0
Бензоил-D-изолейцин	Уксусная кислота	—31,2	—29,0	—23,2
Дибензоил-L-цистин	» »	—106,0	—131,4	—145,4
β-Фенилпропионил-L-	» »	—30,0	—38,0	—42,6
лейцин	Диоксан	—26,2	—28,7	—33,6
β-Фенилпропионил-	Уксусная кислота	+33,6	+24,9	+20,9
L-фенилаланин	Диоксан	+41,9	+30,7	+25,9
Формил-D-изолейцин	Уксусная кислота	—29,6	—25,1	—20,3
	Диоксан	—43,4	—37,3	—32,0
Формил-D-фенилаланин	Уксусная кислота	—42,5		—40,0
	Диоксан	—72,0		—68,5
Ацетил-L-триптофан	Диоксан	+57,5	+48,6	+39,4
(—)-Бензоил-α-амино-	Уксусная кислота	—4,3	—1,3	Нераств.
стеариновая кислота	Диоксан	—12,8	—5,6	—3,8

ния при переходе от безводных растворителей к водным, причем вращение производных L-аминокислот сдвигается влево, а вращение D-аминокислот — вправо. Это дает дополнительный метод выяснения конфигурации α-аминокислот, основанный на их оптических свойствах. В данном случае положительный сдвиг вращения, обнаруживаемый при добавлении воды к раствору (—)-бензоил-α-аминостеариновой кислоты в диоксане или в уксусной кислоте (табл. 51), дает возможность приписать этому соединению D-конфигурацию и в то же время позволяет выяснить конфигурацию соответствующих асимметрических центров сфингозина и дегидросфингозина.

Зная конфигурацию при C_2-атоме сфингозина из приведенных выше данных Картера и Хумистона, для определения конфигурации при другом асимметрическом центре нужно установить, имеет ли молекула *трео*- или *эритро*-структуру. Эти данные можно получить, если соединение с известной *трео*- или *эритро*-конформацией превратить в сфингозин стереохимически контролируемым способом. Именно с этой целью Картер и его сотрудники [505] осуществили синтез эпимерной смеси α-амино-β-оксистеариновых кислот и разделили на антиподы обе рацемические модификации (XXXI и XXXII) этих кислот в виде их N-бензоилпроизводных. Эти рацематы названы ими соответственно А и В-формами. Основываясь на сравнении физических свойств, химических реакций и инфракрасных спектров различных производных этих соединений с соответствующими производными треонина и *алло*-треонина, соединению А была приписана *эритро*-(XXXI), а соединению В *трео*-конфигурация (XXXII).



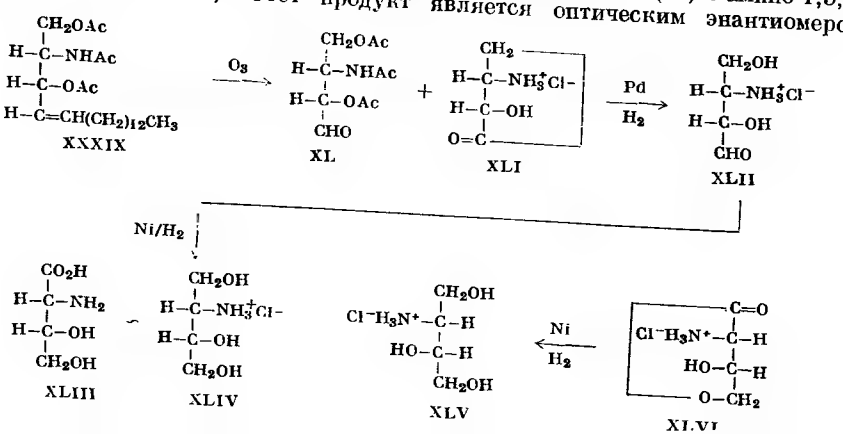
Различные пути доказательства могут быть перечислены в следующем порядке: а) А-рацемат в виде свободной кислоты, в виде его N-бензоилпроизводного и метилового эфира последнего обладают более высокой температурой плавления и меньшей растворимостью, чем соответствующие производные В-рацемата, что совпадает с поведением *алло*-треонина и треонина. Кроме того, более низкоплавкое N-бензоилпроизводное D-формы, как и в случае N-бензоилтреонина, дает более высокоплавкую β-фенилэтиламиновую соль. При превращении метиловых эфиров N-бензоилпроизводных в эфиры O,N-дибензоилпроизводных наблюдается снижение температуры плавления в ряду *эритро*-соединений и повышение у *трео*-соединений.

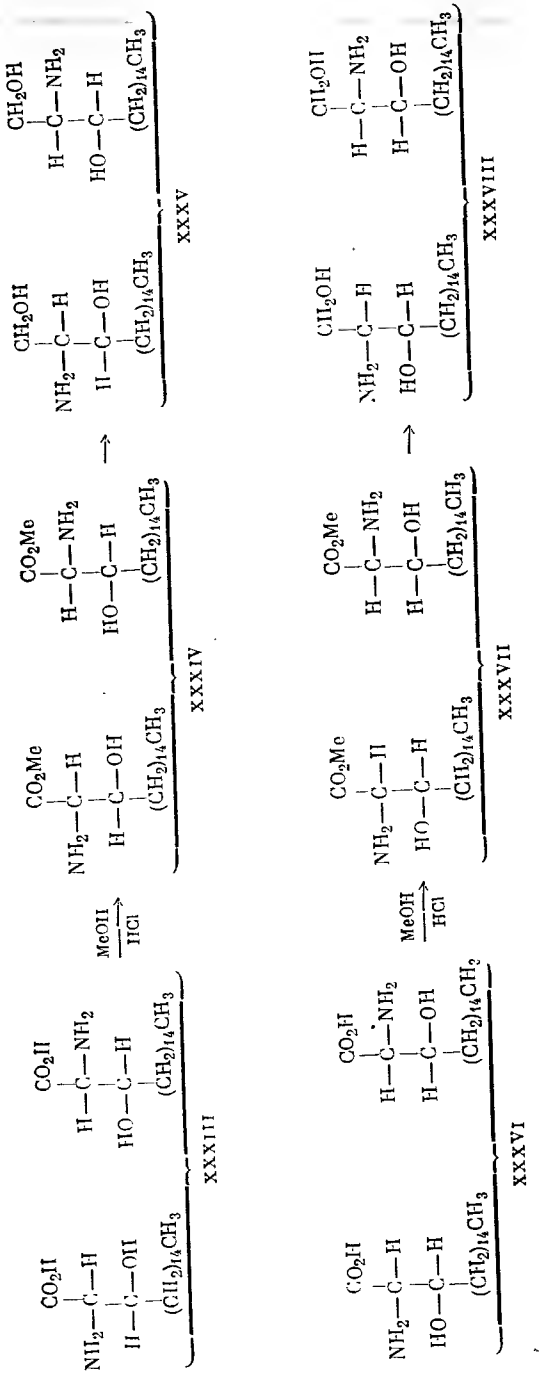
б) Химические доказательства основаны на наблюдении Эллиотта [410], что превращение эфира N-бензоилтреонина или *алло*-треонина действием хлористого тионила в соответствующий оксазолин идет с инверсией конфигурации при β-асимметрическом атоме углерода, а гидролиз оксазолина до бензоиламинокислоты разбавленной кислотой не сопровождается изменением конфигурации. Поэтому в результате суммарной реакции наблюдается превращение треонина в *алло*-треонин и обратно (см. раздел 30). Однако обработка этилатом натрия *цис*- или *транс*-формы оксазолина, т. е. форм, образующихся соответственно из производных треонина и *алло*-треонина, превращает их в равновесную смесь, содержащую примерно 5% *цис*- и 95% *транс*-оксазолина. Оксазолин из метилового эфира α-бензамино-β-оксистеариновой кислоты А как в присутствии, так и в отсутствие этилата натрия образует лишь N-бензоилпроизводное В-формы, тогда как оксазолин, полученный из В-изомера, при непосредственном кислотном гидролизе образует N-бензоилпроизводное А-формы. Если гидролизу предшествует обработка этилатом натрия, то получается N-бензоилпроизводное В-формы. Следовательно, форме А отвечает *эритро*-, а форме В — *трео*-структура.

в) Некоторые различия между инфракрасными спектрами производных треонина и *алло*-треонина наблюдаются также и между соответствующими производными C_{18}-гомологов.

Исходя из этого, Картеру, Шапиро и Гаррисону [505] удалось выяснить вопрос о том, имеет ли дигидросфингозин *трео*- или *эритро*-конфигурацию. Так, превращение DL-*трео*- и DL-*эритро*-α-амино-β-оксистеариновых кислот (XXXIII и XXXVI) в их метиловые эфиры (соответственно XXXIV и XXXVII) и последующее восстановление последних $LiAlH_4$ или никелем Ренея приводит соответственно к *трео*- и *эритро*-формам 1 : 3-диокси-2-аминоктадеканам (XXXV и XXXVIII). Сравнение последних с природным изомером осложняется тем, что синтетический продукт является рацематом. Однако определение конфигурации природного соединения удалось осуществить, воспользовавшись тем, что и DL-*эритро*-1,3-диокси-2-аминодекан (XXXVIII) и дигидросфингозин при обработке хлористым бензоилом в пиридине легко с количественным выходом дают трибензоилпроизводные, тогда как DL-*трео*-основание (XXXV) в тех же условиях не образует трибензоилпроизводного. Отсюда как природному сфингозину, так и дигидросфингозину была приписана *эритро*-конфигурация.

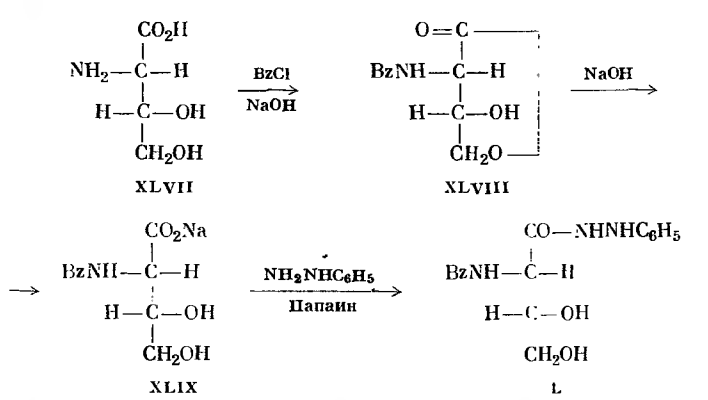
Независимое доказательство *эритро*-конфигурации сфингозина было получено Дженни и Гробом [506] путем стереоспецифического синтеза *эритро*-основания из *транс*-октадекановой кислоты. Кисс, Фодор и Банфи [507] пришли к тем же выводам, изучая продукты расщепления сфингозина. Эта работа представляет особый интерес, так как позволяет установить корреляцию конфигураций обоих асимметрических атомов углерода сфингозина с атомами одного из четырех стереомерных форм α-амино-β,γ-диоксимасляной кислоты. Озонолиз триацетилсфингозина (XXXIX) позволяет выделить из реакционной смеси 3-ацетамидо-2,4-диацетоксимасляный альдегид (XL) и хлоргидрат 3-амино-2-окси-γ-бутиролактона (XLI). Каталитическое гидрирование последнего, сначала в присутствии палладиевого катализатора и затем над никелем Ренея, приводит к образованию (—)-2-амино-1,3,4-бутантриола (XLIV). Этот продукт является оптическим энантиомером





аминобутантриола (XLV), полученного при гидрировании над никелем Ренея γ-лактона L-*эритро*-2-амино-3,4-диоксимасляной кислоты (XLVI). Все это свидетельствует о стереохимической эквивалентности XLIV и D-*эритро*-2-амино-3,4-диоксимасляной кислоты (XLIII) и, следовательно, доказывает принадлежность сфингозина к D-*эритро*-ряду.

В связи с этим следует отметить, что конфигурация стереоизомерных α-амино-β,γ-диоксимасляных кислот была выяснена Ниманом и Николсом [501] в 1942 г. Синтез аминокислоты из D-глицеринового альдегида приводит к образованию смеси двух оптически активных диастереомеров, обладающих β-D-конфигурацией. Ее можно разделить на оптически чистые изомеры, имеющие значения $[\alpha]_D^{24}$ в воде соответственно —13,7° и +16,0°. N-Бензоилирование первого изомера (XLVII) дает α-бензамидо-β, γ-диокси-*н*-бутиролактон (XLVIII), который после превращения в Na-соль (XLIX) и инкубации последней с фенилгидразином в буферном растворе и в присутствии папаина превращается в нерастворимый фенилгидразид α-бензамидо-β,γ-диокси-*н*-масляной кислоты (L). L-Стереоспецифичность фермента определяет принадлежность изомера с $[\alpha]_D$ —13.7° к L_s-*трео*-ряду.



Это подтверждается тем, что данный изомер не чувствителен к действию оксидазы D-аминокислоты, тогда как стереомер с $[\alpha]_D$ +16,0° легко подвергается окислительному действию фермента. Следовательно, последнему изомеру можно приписать D_s-*эритро*-конфигурацию. Те же конфигурации были приписаны этим изомерам на основании правила сдвига парциального вращения (см. табл. 15, стр. 140). Кроме того, подтверждение этой конфигурации было дано Хамелем и Пейнтером [508], которые осуществили взаимопревращения четырех стереоизомеров α-амино-β,γ-диоксимасляной кислоты способом, сходным с использованием ранее Эллиоттом в случае стереоизомеров треонина (раздел 30).

В заключение следует отметить, что *транс*-этиленовая структура сфингозина была независимо установлена Мислоу [509] и Маринетти и Штоцем [510] на основании изучения спектров в инфракрасной области, а также Фодором и Киссом [511] путем образования смешанных кристаллов триацетил- или трибензоилсфингозина и соответствующих ацилпроизводных дигидросфингозина. Эти данные, а также уже приведенные сведения окончательно доказывают полную структуру сфингозина как D-*эритро*-1,3-диокси-2-амино-4-*транс*-октадекена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fischer E., Ber., 24, 1836, 2683 (1891); 40, 102 (1907); 27, 3222 (1894).
2. Розанов М. А., J. Am. Chem. Soc., 28, 114 (1906).
3. Report of the Nomenclature, Spelling, and Pronunciation Committee, American Chemical Society, Chem. Eng. News, 25, 1364 (1947).
4. Hudson C. S., J. Chem. Educ., 18, 353 (1941).
5. Vickery H. B., J. Biol. Chem., 169, 237 (1947).
6. Wheland G. W., Advanced Organic Chemistry, John Wiley and Sons, New York, second edition, 1949, pp. 182—184.
7. Freudenberg K., В кн. Stereochemie, Franz-Deuticke, Leipzig and Vienna, 1933, p. 662.
8. Brewster P., Hughes E. D., Ingold C. K., Rao P. A. D. S., Nature, 166, 178 (1950).
9. Wohl A., Schellenberg R., Ber., 55, 1404 (1922).
10. Freudenberg K., Ber., 47, 2027 (1914).
11. Fischer E., Raske K., Ber., 40, 3717 (1907).
12. Cowdrey W. A., Hughes E. D., Ingold C. K., J. Chem. Soc., 1937, 1208.
13. Wolfrom M. L., Lemieux R. U., Olin S. M., J. Am. Chem. Soc., 71, 2870 (1949).
14. Bijvoet J. M., Peerdeman A. F., van Bommel A. J., Nature, 168, 271 (1951).
15. Wohl A., Momber F., Ber., 47, 3346 (1914); 50, 455 (1917).
16. Wood W. W., Fickett W., Kirkwood J. G., J. Chem. Phys., 20, 561 (1952).
17. Lucas H., Garner H. K., J. Am. Chem. Soc., 70, 990 (1948).
18. Fickett W., Garner H. K., Lucas H. J., J. Am. Chem. Soc., 73, 5063 (1951).
19. Cahn R. S., Ingold C. K., J. Chem. Soc., 1951, 612; Cahn R. S., Ingold C. K., Prelog V., Experientia, 12, 81 (1956).
20. Barrow F., Ferguson G. W., J. Chem. Soc., 1935, 410.
21. Pasteur L., Ann. chim. phys., [3] 31, 81 (1851).
22. Fischer E., Raske K., Ber., 41, 893 (1908).
23. Fonken G. S., Mozingo R., J. Am. Chem. Soc., 69, 1212 (1947).
24. Mozingo R., Wolf D. E., Harris S. A., Folkers K., J. Am. Chem. Soc., 65, 1013 (1943).
25. Karrer P., Helv. Chim. Acta, 6, 957 (1923).
26. Karrer P., Schlosser A., Helv. Chim. Acta, 6, 411 (1923).
27. Schneider F., Ann., 529, 1 (1937).
28. Karrer P., Dinkel P., Helv. Chim. Acta, 36, 122 (1953).
29. Goldschmidt S., Freyss G., Ber., 66, 784 (1933).
30. Levene P. A., Mardashew S., J. Biol. Chem., 117, 179 (1937).
31. Waser E., Brauchli E., Helv. Chim. Acta, 7, 740 (1924).
32. Canzanelli A., Harington C. R., Randall S. S., Biochem. J., 28, 68 (1934).
33. Harington C. R., Pitt-Rivers R. V., Biochem. J., 39, 157 (1945).
34. von Mutzenbecher P., Z. physiol. Chem., 261, 253 (1939).
35. Langenbeck W., Ber., 58, 227 (1925).
36. Kossel A., Edlhacher S., Z. physiol. Chem., 93, 396 (1915).
37. Bamberger E., Ann., 273, 267 (1893).
38. Fischer E., Ber., 35, 2660 (1902).
39. Kaneko Y., J. Chem. Soc. Japan, 61, 207 (1940).
40. Neuberger A., J. Chem. Soc., 1945, 429.
41. Karrer P., Portmann P., Helv. Chim. Acta, 31, 2088 (1948).
42. Karrer P., Portmann P., Suter M., Helv. Chim. Acta, 31, 1617 (1948).

43. Pravda Z., Rudinger J., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 20, 1 (1955).
44. Karrer P., Ehrenstein M., Helv. Chim. Acta, 9, 323 (1926).
45. Schulze E., Winterstein E., Z. physiol. Chem., 26, 1 (1898—1899).
46. Meyer C. E., Rose W. C., J. Biol. Chem., 115, 721 (1936).
47. Torquati T., Arch. farmacol. sper., 15, 213, 308 (1913).
48. Guggenheim M., Z. physiol. Chem., 88, 276 (1913).
49. Funk C., J. Chem. Soc., 99, 554 (1911).
50. Miller E. R., J. Biol. Chem., 44, 481 (1920).
51. Waser E., Lewandski M., Helv. Chim. Acta, 4, 657 (1921).
52. Fischer E., Weichhold O., Ber., 41, 1286 (1908).
53. Ovakimian G., Kuna M., Levene P. A., J. Biol. Chem., 135, 91 (1940).
54. Kuna M., Ovakimian G., Levene P. A., J. Biol. Chem., 137, 337 (1941).
55. Leithe W., Ber., 65, 660 (1932).
56. Leithe W., Ber., 64, 2827 (1931).
57. Catch J. R., Jones T. S. G., Biochem. J., 42, LII (1948).
58. Peterson D. H., Reineke L. M., J. Biol. Chem., 181, 95 (1949).
59. Karrer P. Escher K., Widmer R., Helv. Chim. Acta, 9, 301 (1926).
60. Karrer P., Itschner V., Helv. Chim. Acta, 18, 782 (1935).
61. Karrer P., Schneider H., Helv. Chim. Acta, 13, 1281 (1930).
62. Eagles B. A., Vars H. M., J. Biol. Chem., 80, 615 (1928).
63. Ashley J. N., Harington C. R., J. Chem. Soc., 1930, 2586.
64. Tesar C., Rittenberg D., J. Biol. Chem., 170, 35 (1947).
65. Tanret C., J. Pharm. Chim., 30, 145 (1909).
66. Tanret C., Compt. rend., 149, 222 (1909).
67. Benedict S. R., Newton E. B., Behre J. A., J. Biol. Chem., 67, 267 (1926).
68. Newton E. B., Benedict S. R., Dakin H. D., J. Biol. Chem., 72, 367 (1927).
69. Hunter G., Eagles B. A., J. Biol. Chem., 65, 623 (1925).
70. Hunter G., Eagles B. A., J. Biol. Chem., 72, 123 (1927).
71. Eagles B. A., Johnson T. B., J. Am. Chem. Soc., 49, 575 (1927).
72. Barger G., Ewins J. E., J. Chem. Soc., 99, 2336 (1911).
73. Akabori S., Ber., 66, 151 (1933).
74. Kutscher F., Zentr. Physiol., 24, 775 (1910).
75. Reuter C., Z. physiol. Chem., 78, 167 (1912).
76. Heath H., Lawson A., Rimington C., J. Chem. Soc., 1951, 2215.
77. Heath H., Lawson A., Rimington C., J. Chem. Soc., 1951, 2220.
78. Гулевич В., Амирадзиби С., Ber., 33, 1902 (1900).
79. Гулевич В., Z. physiol. Chem., 50, 535 (1907).
80. Baumann L., Ingvaldsen T., J. Biol. Chem., 35, 263 (1918).
81. Barger G., Tutin F., Biochem. J., 12, 402 (1918).
82. Sifferd R. H., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 108, 753 (1935).
83. Ackermann D., Timpe O., Poller K., Z. physiol. Chem. 183, 1 (1929).
84. Wolff W. A., Wilson D. W., J. Biol. Chem., 109, 565 (1935).
85. Linneweh W., Keil A. W., Hoppe-Seyler F. A., Z. physiol. Chem., 183, 11 (1929).
86. Pyman F. L., J. Chem. Soc., 1930, 183.
87. Keil A. W., Z. physiol. Chem., 187, 1 (1930).
88. Pyman F. L., J. Chem. Soc., 121, 2616 (1922).
89. Linneweh W., Linneweh F., Z. physiol. Chem., 189, 80 (1930).
90. Bahrens O. K., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 120, 517 (1937).
91. Behrens O. K., du Vigneaud V., Ergeb. Physiol., 41, 917 (1939).
92. Ackermann D., Skraup S., Z. physiol. Chem., 284, 129 (1949).
93. Fusari S. A., Frohardt R. P., Ryder A., Haskell T. H., Johannessen D. W., Elder C. C., Bartz Q. R., J. Am. Chem. Soc., 76, 2878 (1954).

94. Fusari S. A., Haskell T. H., Frohardt R. P., Bartz Q. R., J. Am. Chem. Soc., 76, 2881 (1954).
95. Moore J. A., Dice J. R., Nicolaides E. D., Westland R. D., Wittle E. L., J. Am. Chem. Soc., 76, 2884 (1954).
96. Biot J. B., Mém. Acad. Roy. Sciences de l'Institut France, 13, 39, 116 (1835).
97. Neuberger A., Advances in Protein Chem., 4, 297 (1948).
98. Klyne W., в кн. The Structures of Organic Compounds, edited by E. A. Braude, F. C. Nachod, Academic Press, New York, 1954.
99. Klyne W., в кн. Progress in Stereochemistry, Vol. 1, edited by W. Klyne, Academic Press, New York, 1954, p. 177 (Успехи стереохимии, Госхимиздат, М., 1961, стр. 167).
100. Cook E. P., Ber., 30, 294 (1897).
101. Clough G. W., J. Chem. Soc., 107, 1509 (1915).
102. Clough G. W., J. Chem. Soc., 113, 526 (1918).
103. Stoddard M. P., Dunn M. S., J. Biol. Chem., 142, 329 (1942).
104. Stein W. H., Moore S., Begrmann M., J. Am. Chem. Soc., 64, 724 (1942).
105. Dunn M. S., Frieden E. H., Stoddard M. M., Brown H. V., J. Biol. Chem., 144, 487 (1942).
106. Toennies G., Lavine T. F., J. Biol. Chem., 89, 153 (1930).
107. Lutz O., Jirgensons B., Ber., 63, 448 (1930); 64, 1221 (1931).
108. Abderhalden E., Wybert E., Ber., 49, 2449 (1916).
109. Greenstein J. P., Advances in Protein Chem., 9. 121 (1954).
110. van't Hoff J. H., Die Lagerung der Atome im Raume, Brunswick, Vieweg (1894); русск. перевод Вант-Гофф Я. Г., Расположение атомов в пространстве, Изд. Московского университета, 1911.
111. Guye P. A., Gautier M., Compt. rend., 119, 740, 953 (1894).
112. Lowry T. M., Optical Rotatory Power, Longmans, Green, London, 1935.
113. Hudson C. S., J. Am. Chem. Soc., 31, 66 (1909).
114. Hudson C. S., J. Am. Chem. Soc., 32, 338 (1910); 61, 1525 (1939).
115. Anderson E., J. Am. Chem. Soc. 34, 51 (1912).
116. Hudson C. S., J. Am. Chem. Soc., 39, 462 (1917); 40, 813 (1918).
117. Levene P. A., J. Biol. Chem., 23, 145 (1915).
118. Levene P. A., Meyer G. M., J. Biol. Chem., 31, 623 (1917).
119. Richtmeyer N. K., Advances in Carbohydrate Chem., 6, 196 (1951).
120. Barton D. H. R., Jones E. R. H., J. Chem. Soc., 1944, 659; Barton D. H. R., J. Chem. Soc., 1945, 813.
121. Winkelblech K., Z. physik. Chem. (Leipzig), 36, 546 (1901).
122. Wood J. K., J. Chem. Soc., 105, 1988 (1914).
123. Greenstein J. P., Birnbaum S. M., Otey M. C., J. Biol. Chem., 204, 307 (1953).
124. Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 77, 716 (1955).
125. Becker A., Ber., 14, 1028 (1881).
126. Marschall B. M. C., J. Chem. Soc., 69, 1022 (1896).
127. Levene P. A., Bass L W., Steiger R. E., Bencowitz I., J. Biol. Chem., 72, 815 (1932).
128. Andrlik R., Z. Ver. deut. Zucker-Ind., 53, 948 (1903).
129. Vellinger E., Compt. rend., 194, 718 (1932).
130. Ehrlich F., Biochem. Z., 8, 438 (1908).
131. Fischer E., Abderhalden E., Z. physiol. Chem., 51, 264 (1907).
132. Witkop B., Foltz C. M., J. Am. Chem. Soc., 79, 192 (1957).
133. Ehrlich F., Wendel A., Biochem. Z., 8, 438 (1908).
134. Baker C. G., FuS-C. J., Birnbaum S. M., Sober H. A., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 74, 4701 (1952).

135. FuS-C. J., Birnbaum S. M., J. Am. Chem. Soc., 75, 918 (1953).
136. Benoiton L., Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 6192 (1957).
137. Fones W. S., J. Am. Chem. Soc., 75, 4865 (1953).
138. Adams R. T., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 73, 4260 (1951).
139. Greenstein J. P., Levintow L., Baker C. G., White J. Biol. Chem., 188, 647 (1951); Greenstein J. P., Birnbaum S. M., Levintow L., Biochem. Preparations, 3, 84 (1953).
140. Winitz M., Bloch-Frankenthal L., Izumiya N., Birnbaum S. M., Baker C. G., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 78, 2423 (1956).
141. Fones W. S., J. Biol. Chem., 204, 323 (1953).
142. Birnbaum S. M., Levintow L., Kingsley R. B., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 194, 455 (1952).
143. Robinson D. S., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 195, 383 (1952).
144. Lavine T. F., J. Biol. Chem., 169, 477 (1947).
145. Meister A., Levintow L., Kingsley R. B., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 192, 535 (1951).
146. Dakin H. D., J. Chem. Soc., 107, 434 (1915).
147. Dakin H. D., Dudley H. W., J. Biol. Chem., 18, 48 (1914).
148. Andrews J. C., Andrews K. C., J. Biol. Chem., 102, 253 (1933).
149. Dakin H. D., J. Biol. Chem., 44, 499 (1920).
150. Bovarnick M., Clarke H. T., J. Am. Chem. Soc., 60, 2426 (1938).
151. Dakin H. D., Dudley H. W., J. Biol. Chem., 17, 29 (1914).
152. Dakin H. D., Biochem. J., 12, 290 (1918).
153. Dakin H. D., J. Biol. Chem., 8, 25 (1910).
154. Leithe W., Ber., 65, 927 (1932).
155. Brand E., Erlanger B. F., J. Am. Chem. Soc., 72, 3314 (1950).
156. Van Orden H., Smith E. L., J. Biol. Chem., 208, 751 (1954).
157. Miller H. K., Waelsch H., Arch. Biochem. Biophys., 35, 176 (1952).
158. Le Quesne W. J., Young G. T., J. Chem. Soc., 1952, 24.
159. Cavallito C. J., J. Biol. Chem., 164, 29 (1946).
160. Loring H. S., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 111, 385 (1935).
161. Melville J., Biochem. J., 29, 179 (1935).
162. Grassmann W., Schneider W., Biochem. Z., 273, 452 (1934).
163. Amiard G., Heymes R., Velluz L., Bull. soc. chim., France, 1955, 1464.
164. Smith E. L., Bergmann M., J. Biol. Chem., 153, 627 (1944).
165. Abderhalden E., Hirsch P., Schuler J., Ber., 42, 3394 (1909).
166. Bergmann M., Zervas L., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 111, 225 (1935).
167. Dekker C. A., Taylor S. P., Jr., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 180, 155 (1949).
168. Sheehan J. C., Chapmann D. W., Roth R. W., J. Am. Chem. Soc., 74, 3822 (1952).
169. Rydon H. N., Smith P. W. G., J. Chem. Soc., 1956, 3642.
170. Fruton J. S., J. Biol. Chem., 146, 463 (1942).
171. Abderhalden E., Kempe M., Ber., 40, 2737 (1907).
172. Behrens O. K., Bergmann M., J. Biol. Chem., 129, 587 (1939).
173. Fischer E., Scheibler H., Ann., 363, 136 (1908).
174. Bergmann M., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 117, 189 (1937).
175. Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 124, 255 (1938).
176. Davis N. C., Smith E. L., J. Biol. Chem., 200, 373 (1953).
177. Schott H. F., Larkin J. B., Rockland L. B., Dunn M. S., J. Org. Chem., 12, 490 (1947).
178. Ben-Ishai D., J. Org. Chem., 19, 62 (1954).

179. Baer E., Maurukas J., Clarke D. D., Can. J. Chem., 34, 1182 (1956).
180. Abderhalden E., Abderhalden R., Weidle H., Baertich E., Morneweg W., Fermentforschung, 16, 98 (1938).
181. Greenstein J. P., Winitz M., Birnbaum S. M., J. Am. Chem. Soc., 77, 5721 (1955).
182. Freudenberg K., Ber., 66, 177 (1933).
183. Karrer P., van der Sluys Veer F. S., Helv. Chim. Acta, 15, 746 (1932).
184. Karrer P., Kehl W., Helv. Chim. Acta, 13, 50 (1930).
185. Doherty D. G., Tietzman J. E., Bergmann M., J. Biol. Chem., 147, 617 (1943).
186. Чугаев Л., Ber., 31, 360 (1898).
187. Ställberg-Stenhagen S., Arkiv. Kemi Mineral Geol., A, 25, No. 10 (1947); 26, No. 1 (1948).
188. Karrer P., Jäggi W., Takahashi T., Helv. Chim. Acta, 8, 360 (1925).
189. Biot J. B., Mém. Acad. Roy. Sciences de l'Institut France, 2, 41, 114 (1817).
190. Levene P. A., Rothen A., в кн. Organic Chemistry, Vol. 2 edited by H. Gilman, John Wiley and Sons, New York, first edition, 1938, pp. 1779—1849.
191. Drude P., Lehrbuch der Optik, S. Hirzel, Leipzig, 1900.
192. Lowry T. M., Owen G., в кн. Optical Rotatory Power, A General Discussion Held by the Faraday Society, edited by T. M. Lowry, April 1930, p. 371.
193. Karrer P., Kaase W., Helv. Chim. Acta, 2, 436 (1919).
194. Waser E., Helv. Chim. Acta, 6, 210 (1923).
195. Patterson J. W., Brode W. R., Arch. Biochem., 2, 247 (1943).
196. Levene P. A., Rothen A., J. Org. Chem., 1, 76 (1936).
197. Baldwin W. C. G., Proc. Roy. Soc. (London), A, 167, 539 (1938).
198. Otey M. C., Greenstein J. P., Winitz M., Birnbaum S. M., J. Am. Chem. Soc., 77, 3112 (1955).
199. Brand E., Washburn E., Erlanger B. F., Ellenbogen E., Daniel J., Lippmann F., Scheu M., J. Am. Chem. Soc., 76, 5037 (1954).
200. Pinkard F. W., Sharratt E., Wardlow W., Dox E. G., J. Chem. Soc., 1934, 1012.
201. Lifschitz J., Z. physik. Chem. (Leipzig), 114, 491 (1925).
202. Pfeiffer P., Christeleit W., Z. physiol. Chem., 245, 197 (1937).
203. Izumiya N., Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 78, 1602 (1956).
204. Kuhn W., в кн. Stereochemie, edited by K. Freudenberg, Franz-Deuticke, Leipzig and Vienna, 1933.
205. Kauzmann W. J., Walter J. E., Eyring H., Chem. Revs., 26, 339 (1940).
206. Trans. Faraday Soc., 10, 44—138 (1914).
207. Trans. Faraday Soc., 26, 265—461 (1930).
208. Guye P. A., Compt. rend., 110, 714 (1890).
209. Brown C., Proc. Roy. Soc. Edinburgh, 17, 181 (1890).
210. Kuhn W., Z. physik. Chem. (Leipzig), B, 20, 325 (1933).
211. Oseen C. W., Ann. Physik, 48, 1 (1915).
212. Born M., Physik Z., 16, 251 (1915); Ann. Physik., [4] 55, 177 (1918); Proc. Roy. Soc. (London), A, 150, 84 (1935).
213. Thomson J. J., Phil. Mag., [6] 40, 713 (1920).
214. Kuhn W., Trans. Faraday Soc., 26, 293 (1930).
215. Kuhn W., Z. physik. Chem. (Leipzig), B., 31, 23 (1936).
216. Condon E. U., Altar W., Eyring H., J. Chem. Phys., 5, 753 (1937).
217. de Mallemann R., Compt. rend., 181, 298 (1925).
218. Boys S. F., Proc. Roy. Soc. (London), A, 144, 655, 675 (1934).
219. Kirkwood J. G., J. Chem. Phys., 5, 479 (1937).

220. Kirkwood J. G., J. Chem. Phys., 7, 139 (1939).
221. Gorin E., Walter J., Eyring H., J. Chem. Phys., 6, 824 (1938).
222. Levene P. A., Haller H. L., J. Biol. Chem., 67, 329 (1926).
223. Levene P. A., Walti A., J. Biol. Chem., 68, 415 (1926).
224. Levene P. A., Haller H. L., J. Biol. Chem., 69, 126 (1926).
225. Thomson T. R., J. Am. Chem. Soc., 75, 6070 (1953).
226. Emmerling O., Ber., 35, 2291 (1902).
227. Krebs H. A., Biochem. Soc., Symposia (Cambridge, Engl.), 1, 2 (1948).
228. Pasteur L., Compt. rend., 46, 615 (1858); 51, 298 (1860).
229. Schulze E., Bossahard E., Z. physiol. Chem., 10, 134 (1886).
230. Engel M., Compt. rend., 106, 1734 (1888).
231. Menozzi Z., Appiani G., Gazz. chim. ital., 24, 370 (1894).
232. Levintow L., Greenstein J. P., Kingsley R. B., Arch. Biochem. Biophys., 31, 77 (1951).
233. Fischer E., Ber., 32, 2451 (1899).
234. McKenzie A., Hardin A., J. Chem. Soc., 83, 424 (1903).
235. Neuberg C., Mayer P., Z. physiol. Chem., 44, 498 (1905).
236. Chikano M., Z. physiol. Chem., 180, 149 (1929).
237. Ehrlich F., Z. physiol. Chem., 181, 140 (1929).
238. Pringsheim H., Z. physiol. Chem., 65, 96 (1910).
239. Ehrlich F., Biochem. Z., 1, 8 (1906).
240. Fischer E., Z. physiol. Chem., 26, 60 (1898).
241. Ehrlich F., Biochem. Z., 63, 379 (1914).
242. Ehrlich F., Ber., 40, 2538 (1907).
243. Neuberg C., Biochem. Z., 18, 431 (1909).
244. Ehrlich F., Biochem. Z., 182, 245 (1927).
245. Fling M., Fox S. W., J. Biol. Chem., 160, 329 (1945).
246. Hegsted D. M., J. Biol. Chem., 157, 741 (1945).
247. Коникова А. С., Азарх Р. М., Доберт Н. Н., Биохимия, 10, 82 (1945).
248. Woods D. D., Clifton C. E., Biochem. J., 32, 345 (1938).
249. Rydon H. N., Biochem. Soc. Symposia (Cambridge, Engl.), 1, 40 (1948).
250. Izaki K., Takahashi H., Sakaguchi K., Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 19, 233 (1955).
251. Mizushima S., Izaki K., Takahashi H., Sakaguchi K., Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 20, 36 (1956).
252. Mizushima S., Sakaguchi K., Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 20, 131 (1956).
253. Meister A., Biochemistry of the Amino Acids, Academic Press, New York, 1957; русск. перевод: Мейстер А., Биохимия аминокислот, М., 1961.
254. Neuberger A., Sanger F., Biochem. J., 38, 125 (1944).
255. Camien M. N., McClure L. E., Dunn M., Arch. Biochem. Biophys., 28, 220 (1950).
256. Gale E. F., Advances in Enzymol., 6, 1 (1946).
257. Wohlgemuth J., Ber., 38, 2064 (1905).
258. Abderhalden E., Tetzner E., Z. physiol. Chem., 232, 79 (1935).
259. Neubauer O., Deut. Arch. klin. Med., 95, 211 (1909).
260. Edlbacher S., Schmid K., Helv. Chim. Acta, 28, 1079 (1945).
261. Abderhalden E., Weil A., Z. physiol. Chem., 77, 435 (1912).
262. Kiyokawa M., Z. physiol. Chem., 214, 38 (1933).
263. Albanese A. A., Frankston J. E., Irby V., J. Biol. Chem., 160, 441 (1945).
264. Abderhalden E., Samuely A., Z. physiol. Chem., 47, 346 (1906).
265. Lanyar F., Z. physiol. Chem., 274, 217, 225 (1942); 278, 155 (1943).
266. Kotake Y., Matsuoka Z., Okagawa M., Z. physiol. Chem., 122, 166 (1922).

267. Holtz P., Credner K., Holtz D., Z. physiol. Chem., 280, 49 (1944).
268. Waser E., Helv. Chim. Acta, 6, 206 (1923).
269. Winitz M., Greenstein J. P., Birnbaum S. M., Arch. Biochem. Biophys., 72, 448 (1957).
270. Cox G. J., Berg C. P., J. Biol. Chem., 107, 497 (1934).
271. Jackson R. W., Block R. J., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 30, 587 (1932—1933).
272. Rose W. C., Womack M., J. Biol. Chem., 166, 103 (1946).
273. Berg C. P., J. Biol. Chem., 104, 373 (1934).
274. du Vigneaud V., Sealock R. R., Van Etten C., J. Biol. Chem., 98, 565 (1932).
275. White J., Fones W. S., Sober H. A., J. Biol. Chem., 199, 505 (1952).
276. Harrow B., Sherwin C. P., J. Biol. Chem., 70, 683 (1926).
277. Meister A., White J., J. Biol. Chem., 191, 211 (1951).
278. Bubl E. C., Butts J. S., J. Biol. Chem., 180, 839 (1949).
279. Jackson R. W., J. Biol. Chem., 84, 1 (1929).
280. Birnbaum S. M., Winitz M., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 72, 428 (1957).
281. Penrose L., Quastel J. H., Biochem. J., 31, 266 (1937).
282. Ratner S., Schoenheimer R., Rittenberg D., J. Biol. Chem., 134, 653 (1940).
283. Ratner S., Weissman N., Schoeheimer R., J. Biol. Chem., 147, 549 (1943).
284. Knoop F., Kertess E., Z. physiol. Chem., 71, 252 (1911).
285. Knoop F., Blanco J. G., Z. physiol. Chem., 146, 267 (1925).
286. du Vigneaud V., Irish O. J., J. Biol. Chem., 122, 349 (1938).
287. du Vigneaud V., Cohn M., Brown G. B., Irish O. J., Schoenheimer R., Rittenberg D., J. Biol. Chem., 131, 273 (1939).
288. Bernhard K., Steinhauser H., Z. physiol. Chem., 273, 31 (1942).
289. du Vigneaud V., Wood J. L., Irish O. J., J. Biol. Chem., 129, 171 (1939).
290. Stekol J. A., J. Biol. Chem., 164, 651 (1946).
291. du Vigneaud V., Wood J. L., Binkley F., J. Biol. Chem., 138, 369 (1941).
292. Binkley F., Wood J. L., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 153, 495 (1944).
293. Neuberger A., Biochem. Soc. Symposia (Cambridge, Engl.), 1, 20 (1948).
294. Berg C. P., Physiol. Revs., 33, 145 (1953).
295. Knoop F., Z. physiol. Chem., 67, 489 (1910).
296. Krebs H. A., Klin. Wochschr., 11, 1744 (1932).
297. Krebs H. A., Z. physiol. Chem., 217, 191 (1933).
298. Krebs H. A., Biochem. J., 29, 1620 (1935).
299. Krebs H. A., в кн. The Enzymes, Vol. 2, pt. 1, edited by J. B. Sumner and K. Myrbäck, Academic Press, New York, 1951, p. 499.
300. Blanchard M., Green D. E., Nocito V., Ratner S., J. Biol. Chem., 155, 421 (1944); 161, 583 (1945).
301. Zeller E. A., Maritz A., Iselin B., Helv. Chim. Acta, 28, 1615 (1945).
302. von Euler H., Adler E., Gunther G., Das N. B., Z. physiol. Chem., 254, 61 (1938).
303. Frieden C., Velick S. F., Biochim. et Biophys. Acta, 23, 439 (1957).
304. Still J. L., Buell M. V., Knox W. E., Green D. E., J. Biol. Chem., 179 831 (1949).
305. Still J. L., Sperling E., J. Biol. Chem., 182, 585 (1950).
306. Blaschko H., Hawkins J., Biochem. J., 52, 306 (1952).
307. Blaschko H., Himms J. M., J. Physiol. (London), 128, 7P (1955).

308. Boulanger P., Osteux R., Compt. rend., 241, 125 (1955).
309. Bender A. E., Krebs H. A., Biochem. J., 46, 210 (1950).
310. Stumpf P. K., Green D. E., J. Biol. Chem., 153, 387 (1944).
311. Horowitz N. H., J. Biol. Chem., 154, 141 (1944).
312. Emerson R. L., Puziss M., Knight S. G., Arch. Biochem., 25. 299 (1950).
313. Klein J. R., Handler P., J. Biol. Chem., 139, 103 (1941).
314. Baker C. G., Meister A., J. Am. Chem. Soc., 73, 1336 (1951).
315. Birnbaum S. M., Fu S-C. J., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 203, 333 (1953).
316. Izumiya N., Fu S-C. J., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 205, 221 (1953).
317. Black S., Wright N. G., J. Biol. Chem., 213, 39 (1955).
318. Fones W. S., неопубликованные данные.
319. Greenstein J. P., Birnbaum S. M., Otey M. C., J. Am. Chem. Soc., 75, 1994 (1953).
320. Wade R., Birnbaum S. M., Winitz M., Koegel R. J., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 648 (1957).
321. Berlinguet L., Gaudry R., J. Biol. Chem., 198, 765 (1952).
322. Work E., Birnbaum S. M., Winitz M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 77, 1916 (1955).
323. Bergmann M., Fraenkel-Conrat H., J. Biol. Chem., 119, 707 (1937).
324. Niemann C., Rapport M. M., J. Am. Chem. Soc., 68, 1671 (1946).
325. Adams R. T., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 73, 4260 (1951).
326. Bennett E. L., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 72, 1800 (1950).
327. Piutti A., Compt. rend., 103, 134 (1886).
328. Gibson Q. H., Wiseman G., Biochem. J., 48, 426 (1951).
329. Clarke E. W., Gibson Q. H., Smyth D. H., Wiseman G., J. Physiol. (London), 112, 46P (1951).
330. Matthews D. M., Smyth D. H., J. Physiol. (London), 116, 20P (1952); 126, 96 (1954).
331. Schofield F. A., Lewis H. B., J. Biol. Chem., 168, 439 (1947).
332. Wiseman G., J. Physiol. (London), 120, 63 (1953).
333. Fridhandler L., Quastel J. H., Arch. Biochem. Biophys., 56, 424 (1955).
334. Agar W. T., Hird F. J. R., Sidhu G. S., J. Physiol. (London), 121, 255 (1953); Biochim. et Biophys. Acta, 14, 80 (1954).
335. Walden P., Ber., 29, 133 (1896).
336. Walden P., Ber., 30, 2795, 3146 (1897).
337. Walden P., Ber., 32, 1833, 1855 (1899).
338. Walden P., Ber., 28, 1287, 2766 (1895).
339. Fischer E., Ber., 40, 489 (1907).
340. Fischer E., Ber., 39, 2893 (1906).
341. Fischer E., Ann., 340, 123 (1905).
342. Fischer E., Scheibler H., Ber., 41, 889, 2891 (1908); 42, 1219 (1909).
343. Fischer E., Carl H., Ber., 39, 3996 (1906).
344. Fischer E., Scheibler H., Groh R., Ber., 43, 2020 (1910).
345. Fischer E., Scheibler H., Ann., 383, 337 (1911).
346. Scheibler H., Wheeler A. S., Ber., 44, 2684 (1911).
347. Fischer E., Moreschi A., Ber., 45, 2447 (1912).
348. Fischer E., Schoeller W., Ann., 357, 1 (1907).
349. Senter G., Drew H. D. K., J. Chem. Soc., 107, 638 (1915); 109, 1091 (1916).
350. Walden P., Optische Umkehrerscheinungen, Vieweg, Braunschweig, 1919.
351. Freudenberg K., Rhino F., Ber., 57, 1547 (1924).

352. Jacobs W. A., Craig L. C., Science, 82, 16 (1935).
353. Trommel J., Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. Proc. Ser. B, 56, 272 (1953); Ser. B, 57, 364 (1954).
354. Ställberg-Stenhagen S., Stenhagen E., Arkiv Kemi Mineral. Geol., B, 24, No. 9 (1947).
355. Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 77, 3106 (1955).
356. Freudenberg K., Ber., 66, 177 (1933).
357. Freudenberg K., Noë A., Ber., 58, 2399 (1925).
358. Ingold C. K., Structure and Mechanism in Organic Chemistry, Cornel University Press, Ithaca, New York, 1953; русск. перевод: Ингольд К. К., Механизм реакций и строение органических соединений, Издатинлит, М., 1959; Hibbin B. C., Hughes E. D., Ingold C. K., Chem. & Ind. (London), 1954, 933.
359. Hammett L. P., Physical Organic Chemistry, McGrew-Hill Book Co., New York, 1940.
360. Brewster P., Hiron F., Hughes E. D., Ingold C. K., Rao P. A. D. S., Nature, 166, 178 (1950).
361. Watson M. B., Youngson G. W., J. Chem. Soc., 1954, 2145.
362. Arnstein H. R. V., Hunter G. D., Muir H. M., Neuberger A., J. Chem. Soc., 1952, 1329.
363. Izumiya N., J. Chem. Soc., Japan, 72, 26, 149 (1951).
364. Fischer E., von Grävenitz R., Ann., 406, 1 (1914).
365. McKenzie A., Clough G. W., J. Chem. Soc., 95, 777 (1909).
366. Abderhalden E., Zeisset W., Z. physiol. Chem., 195, 121 (1931); 200, 179 (1931).
367. Abderhalden E., Schweitzer F., Z. physiol. Chem., 206, 116 (1932).
368. Abderhalden E., Faust W., Haase E., Z. physiol. Chem., 228, 187 (1934).
369. Pfister K., Howe E. E., Robinson C. A., Shabica A. C., Pietrusza E. W., Tishler M., J. Am. Chem. Soc., 71, 1096 (1949).
370. Fischer E., Leuchs H., Ber., 36, 24 (1903).
371. Peat S., Advances in Carbohydrate Chem., 2, 38 (1946).
372. Lake W. H. G., Peat S., J. Chem. Soc., 1938, 1417.
373. Haworth W. N., Lake W. H. G., Peat S., J. Chem. Soc., 1939, 271.
374. Oldham J. W. H., J. Am. Chem. Soc., 56, 1360 (1934).
375. Cutler W. O., Haworth W. N., Peat S., J. Chem. Soc., 1937, 1979.
376. Cox E. G., Jeffrey G. A., Nature, 143, 894 (1939).
377. Levene P. A., J. Biol. Chem., 63, 95 (1925).
378. Lutz O., Jirgensons B., Ber., 65, 784 (1932).
379. Bergmann M., Zervas L., Rinke H., Schleich H., Z. physiol. Chem., 224, 33 (1934).
380. Karrer P., Mayer J., Helv. Chim. Acta, 20, 407 (1937).
381. Pfeiffer P., Christeleit W., Z. physiol. Chem., 247, 262 (1937).
382. Centnerzwer M., Z. physik. Chem. (Leipzig), 29, 715 (1899).
383. Delépine M., Bull. soc. chim. France [4] 29, 656 (1921).
384. Fischer E., Ber., 27, 3225 (1894).
385. Lettré H., Ergeb. Enzymforsch., 9, 1 (1943).
386. Fredga A., Arkiv Kemi Mineral Geol., B, 18, No. 4 (1944).
387. Fredga A., в кн. The Svedberg Anniversary Volume, Almqvist and Wiksells, Uppsala, 1944, p. 261.
388. Fredga A., Svensk Kem. Tidskr., 53, 221 (1941); 54, 26 (1942).
389. Fredga A., Arkiv. Kemi Mineral Geol., B, 15, No. 23 (1942).
390. Fredga A., Arkiv. Kemi Mineral Geol., B, 14, No. 27 (1941).

391. Blanchard M., Green D. E., Nocito V., Ratner S., J. Biol. Chem., 155, 421 (1944); 161, 583 (1945).
392. Blanchard M., Green D. E., Nocito-Carrol V., Ratner S., J. Biol. Chem., 163, 159 (1946).
393. Fu S-C. J., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 76, 6054 (1954).
394. McCoy R. H., Meyer C. E., Rose W. C., J. Biol. Chem., 112, 283 (1935).
395. Oikawa S., Japan J. Med. Sci. Biochem., 1, 61 (1925).
396. Levene P. A., Chem. Revs., 2, 179 (1926).
397. Braun G., J. Am. Chem. Soc., 52, 3176 (1930).
398. Glattfeld J. W. E., Chittum J. W., J. Am. Chem. Soc., 55, 3663 (1933).
399. Marquenne L., Ann. chim. et phys. [7], 24, 399 (1901).
400. Levene P. A., Haller H. L., J. Biol. Chem., 65, 49 (1925); 67, 329 (1926); 69, 165, 569 (1926); 83, 177 (1929).
401. Pickard R. H., Kenyon J., J. Chem. Soc., 99, 49 (1911); 103, 1923 (1911); 105, 830 (1914).
402. Wolfrom M. L., Lemieux R. U., Olin S. M., Weisblat D. I., J. Am. Chem. Soc., 71, 4057 (1949).
403. Wiberg K. B., J. Am. Chem. Soc., 74, 3891 (1952).
404. Doering W., Young R. W., J. Am. Chem. Soc., 74, 2997 (1952).
405. Tarbell D. S., Paulson M. C., J. Am. Chem. Soc., 64, 2842 (1942).
406. Levene P. A., Walti A., Haller H. L., J. Biol. Chem., 71, 465 (1926—1927).
407. Abderhalden E., Eichwald E., Ber., 51, 1312 (1918).
408. Attenburrow J., Elliott D. F., Penny G. F., J. Chem. Soc., 1948, 310.
409. Elliott D. F., Nature, 162, 657 (1948); J. Chem. Soc., 1949, 589.
410. Elliott D. F., J. Chem. Soc., 1950, 62.
411. Pfister K., Robinson C. A., Shabica A. C., Tishler M., J. Am. Chem. Soc., 71, 1101 (1949).
412. Pfister K., Robinson C. A., Shabica A. C., Tishler M., J. Am. Chem. Soc., 70, 2297 (1948).
413. Bergmann M., Miekeley A., Z. physiol. Chem., 140, 128 (1924).
414. Shoemaker D. P., Donohue J., Schomaker V., Corey R. B., J. Am. Chem. Soc., 72, 2328 (1950).
415. Berner E., Leonardsen R., Ann., 538, 1 (1939).
416. Ställberg-Stenhagen S., Arkiv Kemi Mineral Geol., A23, No 15 (1946).
417. Marckwald W., Ber., 37, 1038 (1904).
418. Levene P. A., Marker R. E., J. Biol. Chem., 91, 77 (1931).
419. Hansen R. P., Shorland F. R., Cooke N. J., Biochem. J., 52, 203 (1952); 53, 374 (1953).
420. Weitkamp A. W., J. Am. Chem. Soc., 67, 447 (1945).
421. Truter E. V., Quart. Revs. (London), 5, 390 (1951).
422. Ställberg-Stenhagen S., Arkiv Kemi Mineral. Geol., A25, No 10 (1947); No 1 (1948); Arkiv Kemi, 1, 187 (1949); 2, 95, 431 (1950); 3, 117 (1951); Ställberg-Stenhagen S., Stenhagen E., J. Biol. Chem., 183, 223 (1950).
423. Velick S. F., English J., J. Biol. Chem., 160, 473 (1945).
424. Crombie L., Harper S. H., J. Chem. Soc., 1950, 2685; Chem. & Ind. (London) 1950, 757.
425. Linstead R. P., Lunt J. C., Weedon B. C. L., J. Chem. Soc., 1950; 3333; 1951, 1130.
426. Klyne W., Chem. & Ind. (London), 1951, 1022.
427. Klyne W., J. Chem. Soc., 1955, 378.
428. Marckwald W., Ber., 32, 1089 (1899).
429. Marckwald W., Nolda E. Ber., 42, 1583 (1909).

430. Welt I., Compt. rend., 119, 855 (1894).
431. Drell W., J. Am. Chem. Soc., 77, 5429 (1955).
432. Hartman W. J., Pogrund R. S., Drell W., Clark W. C., J. Am. Chem. Soc., 77, 816 (1955).
433. Trommel J., Bijvoet J. M., Acta Cryst., 7, 703 (1954).
434. Bijvoet J. M., Endeavour, 14, No 54, 70 (1955).
435. McKenzie A., Smith I. A., J. Chem. Soc., 121, 1348 (1922).
436. Wieland H., Witkop B., Ann., 543, 171 (1940).
437. Drew H. D. K., Haworth W. N., J. Chem. Soc., 1926, 2305.
438. Hudson C. S., Neuberger A., J. Org. Chem., 15, 24 (1950).
439. Karrer P., Widmer R., Helv. Chim. Acta, 8, 364 (1925).
440. Engeland R., Ber., 42, 2965 (1909).
441. Patchett A. A., Witkop B., J. Am. Chem. Soc., 79, 185 (1957).
442. Zussman J., Acta Cryst., 4, 72, 493 (1951).
443. Donohue J., Trueblood K. N., Acta Cryst., 5, 414, 419 (1952).
444. Virtanen A. I., Hietala P. K., Acta Chem. Scand., 9, 175 (1955).
445. Benoiton L., Bouthillier L. P., Can. J. Chem., 33, 1473 (1955); Can J. Biochem. Physiol., 34, 661 (1956).
446. Virtanen A. I., Kari S., Acta Chem. Scand., 8, 1290 (1954).
447. Grobbelaar N., Pollard J. K., Steward F. C., Nature, 175, 703 (1955).
448. Moore E., Wilson D. W., J. Biol. Chem., 119, 573, 585 (1937).
449. Akasi S., J. Biochem. (Tokyo), 25, 261, 281, 291 (1937).
450. Morizawa K., Acta. Schol. Med. Univ. Imp. Kioto, 9, 285 (1927).
451. Herbst R. M., Swart E. A., J. Org. Chem., 11, 368 (1946).
452. Izumiya N., Wade R., Winitz M., Otey M. C., Birnbaum S. M., Koegel R. J., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 652 (1957).
453. Greenstein J. P., Izumiya N., Winitz M., Birnbaum S. M., J. Am. Chem. Soc., 77, 707 (1955).
454. Fieser L. F., Fieser M., Organic Chemistry, D. C., Heath. Boston, 1950, p. 281.
455. Gawron O., Glaid A. J., J. Am. Chem. Soc., 77, 6638 (1955).
456. Kaneko T., частное сообщение.
457. Levene P. A., Haller H. L., J. Biol. Chem., 77, 555 (1928).
458. Dakin H. D., J. Biol. Chem., 48, 273 (1921).
459. Dakin H. D., J. Biol. Chem., 50, 403 (1922).
460. Sallach H. J., Peterson T. H., J. Biol. Chem., 223, 629 (1956).
461. Sallach H. J., J. Biol. Chem., 229, 437 (1957).
462. Erlenmeyer E., Ber., 25, 3445 (1892); Erlenmeyer E., Früstück E., Ann., 284, 36 (1895).
463. Billet D., Compt. rend., 230, 1074 (1950).
464. Plöchl J., Mayer B., Ber., 30, 1600 (1897).
465. Carrara G., Weitnauer G., Gazz. chim. ital., 79, 856 (1949).
466. Controulis J., Rebstock M. C., Crooks H. M., J. Am. Chem. Soc., 71, 2463 (1949).
467. Rebstock M. C., Crooks H. M., Controulis J., Bartz Q. R., J. Am. Chem. Soc., 71, 2458 (1949).
468. Nagai W. N., Kanao S., Ann., 470, 157 (1929).
469. Fodor G., Kiss J., Sallay D., J. Chem. Soc., 1951, 1858.
470. Freudenberg K., Schoeffel E., Braun E., J. Am. Chem. Soc., 54, 234 (1932).
471. Freudenberg K., Nikolai F., Ann., 510, 223 (1934).
472. Honjo M., J. Pharm. Soc., Japan, 73, 368 (1953); Chem. Abstr., 48, 2642 (1954).
473. Fleš D., Balenović B., J. Am. Chem. Soc., 78, 3072 (1956).

474. Vögler K., Helv. Chim. Acta, 33, 2111 (1950).
475. Lewkowitsch J., Ber., 15, 1505 (1882); 16, 1568 (1883).
476. Timmermans L., von Lansker T., Jaffe J., Bull. soc. chim. Belg., 48, 33 (1939).
477. Winther C., Ber., 28, 3000 (1895).
478. Freudenberg K., Brauns F., Siegel H., Ber., 56, 193 (1923).
479. Clough G. W., J. Chem. Soc., 1925, 2808.
480. Freudenberg K., Markert L., Ber., 58, 1753 (1925).
481. Wood C. E., Nicholas S. D., J. Chem. Soc., 1925, 1712.
482. Kuna M., Levene P. A., J. Biol. Chem., 118, 315 (1937).
483. Mislow K., J. Am. Chem. Soc., 73, 3954 (1951).
484. McKenzie A., J. Chem. Soc., 75, 964 (1899).
485. Kenyon J., Phillips H., J. Chem. Soc., 1930, 1676.
486. Levene P. A., Stevens P. G., J. Biol. Chem., 89, 471 (1930).
487. Freudenberg K., Todd J., Seidler R., Ann., 501, 199 (1933).
488. Levene P. A., Harris S. A., J. Biol. Chem., 113, 55 (1936).
489. Shaw K. N. F., Fox S. W., Abstracts of Papers, 118th Meeting, American Chemical Society (1950), p. 28N; J. Am. Chem. Soc., 75, 3417 (1953).
490. Fones W. S., J. Org. Chem., 17, 1534 (1952).
491. Bolhofer W. A., J. Am. Chem. Soc., 74, 5459 (1952).
492. Fones W. S., Arch. Biochem. Biophys., 36, 486 (1952).
493. Thudichum J. L. W., J. prakt. Chem., 25, 19 (1882); Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere, Pietzker, Tübingen, 1901, p. 187.
494. Wörner E., Thierfelder W. A., Z. physiol. Chem., 30, 542 (1900).
495. Levene P. A., Jacobs W. A., J. Biol. Chem., 11, 547 (1912).
496. Lapworth A., J. Chem. Soc., 103, 1029 (1913).
497. Levene P. A., West C. J., J. Biol. Chem., 16, 549 (1913—1914), 18, 481 (1914).
498. Klenk E., Z. physiol. Chem., 185, 169 (1929).
499. Klenk E., Diebold W., Z. physiol. Chem., 198, 25 (1931).
500. Carter H. E., Glick F. J., Norris W. P., Phillips G. E., J. Biol. Chem., 142, 449 (1942); 170, 285 (1947).
501. Niemann C., Nichols P. L., J. Biol, Chem., 143, 191 (1942).
502. Bergström S., Wintersteiner O., J. Biol. Chem., 143, 503 (1942).
503. Jackson E. L., Org. Reactions, 1. 341 (1941).
504. Carter H. E., Humiston C. G., J. Biol. Chem., 191, 727 (1951).
505. Carter H. E., Shapiro D., Harrison J. B., J. Am. Chem. Soc., 75, 1007 (1953); Carter H. E., Harrison J. B., Shapiro D., J. Am. Chem. Soc. 75, 4705 (1953).
506. Jenny E. F., Grob C. A., Helv. Chim. Acta, 36, 1936 (1953).
507. Kiss J., Fodor G., Banfi. D., Helv. Chim. Acta, 37, 1471 (1954).
508. Hamel E. E., Painter E. P., J. Am. Chem. Soc., 75, 1362 (1953).
509. Mislow K., J. Am. Chem. Soc., 74, 5155 (1953).
510. Marinetti G., Stotz E., J. Am. Chem. Soc., 76, 1347 (1954).
511. Fodor G., Kiss J., Nature, 171, 651 (1953).

18 Заказ № 576

ГЛАВА 5

ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СИНТЕЗА ПЕПТИДОВ

ВВЕДЕНИЕ

1. Номенклатура и строение. Класс соединений, состоящих из остатков аминокислот, соединенных между собой амидными связями, которые образуются в результате отщепления элементов воды, является наиболее подробно изученным из всех производных аминокислот. Соединения этого типа могут быть представлены следующим образом:

$$-NH{\bullet}CHR{\bullet}CO_2H + NH_2{\bullet}CHR'{\bullet}CO- \rightarrow -NH\ CHR{\bullet}CO{\cdot\cdot}NH\ CHR'{\bullet}CO- + H_2O$$

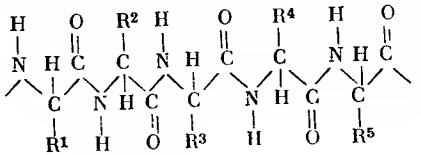
Характерная для этих соединений амидная связь, образующаяся при взаимодействии α-амино- или α-иминогруппы одной аминокислоты с α-карбоксильной группой другой аминокислоты, называется *пептидной связью* (обозначена пунктирной линией). Соединения, содержащие такого рода связи, обычно называют *пептидами* или *полипептидами*. Эти термины в свое время были предложены Эмилем Фишером [1] по аналогии с номенклатурой, принятой для углеводов:

«Название «полипептиды» предложено мною для веществ, которые состоят из аминокислот, соединенных между собой амидоподобными связями, причем простейшим представителем полипептидов является производное гликоколя, так называемый глицилглицин:

$$NH_2CH_2CO—NHCH_2CO_2H$$

По числу содержащихся в них аминокислот различают ди-, три-, тетрапептиды и т. д. С одной стороны, эта номенклатура является аналогичной номенклатуре углеводов, а с другой стороны, в ней использовано старое слово «пептон», так как с самого начала я ожидал, а благодаря всем дальнейшим наблюдениям еще более убедился в том, что эти искусственно получаемые вещества родственны природным пептонам, другими словами, что пептоны представляют собой в основном смесь полипептидов, которую до сих пор не удавалось разделить».

Таким образом, пептиды или полипептиды можно рассматривать как полимеры аминокислот, которые соединены амидными связями в цепи, содержащие от двух до нескольких тысяч *аминокислотных остатков*. Отрезок гипотетической пептидной цепи может быть изображен таким образом:



Такого рода полимеры, которые содержат два, три или четыре аминокислотных остатка, называют соответственно ди-, три-, тетрапептидами и т. д. Хотя представление о том, что белки состоят из аминокислот, начало складываться еще с 1820 г., когда Браконно [2] выделил глицин из гидролизатов желатины, лишь около 80 лет спустя Хофмейстер [3] и Фишер [1], независимо один от другого, высказали предположение, что аминокислоты в молекуле белка соединены между собой пептидными связями. Согласно этой гипотезе, молекулу белка можно рассматривать в простейшем случае как линейный полипептид [1], состоящий из $x + 2$ остатков

$$NH_2CHRCO—(\underset{\text{I}}{NHCHRCO})_x—NHCHRCO_2H,$$

где R — заместитель различного строения, т. е. алкильный, арильный, гетероциклический и т. д. Значительная часть данных, накопленных с тех пор в подтверждение полипептидной природы белков, вкратце сводится к следующему: а) характерная красно-фиолетовая окраска щелочного раствора сульфата меди («биуретовая реакция»), обусловленная наличием соединений с пептидными связями, является очень резко выраженной в случае белков, но слабеет с укорачиванием полипептидной цепи и, следовательно, с уменьшением числа пептидных связей; б) хотя число определяемых титрованием карбоксильных и аминогрупп в нативном белке относительно невелико, после полного гидролиза число таких групп заметно возрастает, причем последние образуются почти в одинаковом количестве; в) протеолитические энзимы, катализирующие гидролиз белков до аминокислот, аналогичным образом вызывают расщепление и синтетических пептидов; г) частичный кислотный гидролиз белков приводит к их расщеплению до низших пептидов, химическое строение которых может быть установлено; д) с помощью рентгеноструктурного анализа и ИК-спектроскопии показано наличие в белках характерной пептидной связи, обнаруживаемой и у низших синтетических пептидов известного строения, и е) установлена аналогия в поведении белков и синтетических пептидов при их последовательной деградации под действием различных химических агентов.

Белки присутствуют во всех живых клетках и обладают самым разнообразным биологическим действием. Они могут, например, являться энзимами, генами, вирусами или гормонами и составляют главную часть мышц, сухожилий, кожи и волос. Хотя до сих пор установлено, что в состав белков входит немногим более двадцати разнообразных аминокислот, имеющих L-конфигурацию, тем не менее в молекуле одного белка может содержаться несколько сот и даже тысяч аминокислотных остатков. Качественные и количественные различия аминокислотного состава белков, так же как и различия в последовательности остатков в пептидных цепях, в характере и числе вторичных связей между цепями и в пространственном расположении цепей,— все это делает теоретически возможным существование огромного числа различных видов белков, из которых каждый может иметь бесчисленное множество конформаций. С помощью рентгеноструктурного анализа показано, например, что одна из таких конформаций полипептидной цепи белковой молекулы представляет собой винтовую или спиральную структуру, содержащую 3,7 аминокислотного остатка в каждом витке спирали и имеющую шаг спирали около 5,4 Å [4]; такая предполагаемая структура изображена в проекции на рис. 21. Во всяком случае, белки отличаются от низших полипептидов с открытой цепью не только тем, что содержат значительно более разнообразный набор аминокислотных остатков, но и тем, что обладают молекулярным весом по меньшей мере 10 000. Эта величина приблизительно соответствует нижнему пределу молекулярного веса белка,

при котором последний может задерживаться целлофановой мембраной при диализе [5]. Иначе говоря, различие в основных физических и химических свойствах между пептидами и белками находится в прямой зависимости от их молекулярного веса.

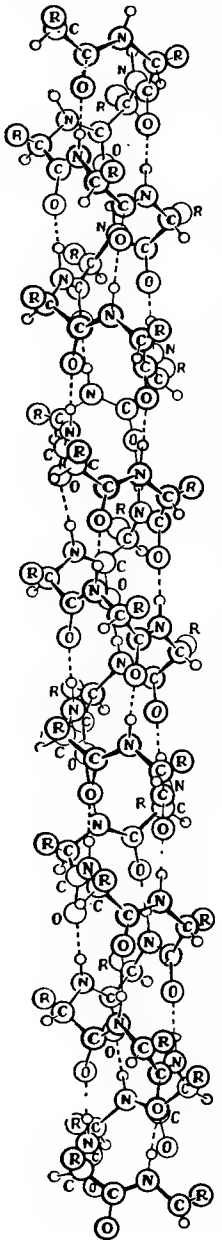


Рис. 21. Модель спирали, содержащей в одном витке 3,7 аминокислотного остатка [4].

Номенклатура. Обозначения, являющиеся общепринятыми в номенклатуре пептидов, изложены в следующем правиле Международного союза чистой и прикладной химии (I. U. P. A. C.) [6]:

Радикалы, отвечающие аминокислотам с тривиальным названием, оканчивающимся на *ин*, и образующиеся путем отнятия OH от $—CH(NH_2)CO_2H$ и сходных группировок, следует называть, изменяя окончание *ин* на *ил*.

Примеры: глицил (от глицина), тирозил (от тирозина), цистил (от цистина).

Следующие названия не согласуются с этим правилом, но являются принятыми: аспарагинил (от аспарагина), глутаминил (от глутамина), цистеинил (от цистеина), триптофил (от триптофана).

Радикалы, отвечающие аспарагиновой и глутаминовой кислотам, называются соответственно аспартил и глутамил.

О применении такой номенклатуры см. подробнее в табл. 52.

Аминокислотные остатки общего типа —NHCHRCO — фактически являются ацильными заместителями, и в названии данного пептида эти остатки обозначают в порядке их расположения от концевой аминогруппы пептидной цепи.

Кроме того, конфигурация каждого аминокислотного остатка обозначается приставкой в виде прописных букв L и D. В качестве иллюстрации этой системы номенклатуры тетрапептид (II), состоящий из N-концевого остатка L-аланина и следующих за ним остатков глицина, L-аспарагина и D-аланина, может быть назван L-аланил-глицил-L-аспарагинил-D-аланином.

$$NH_2CH(CH_3)CO—NHCH_2CO—\underset{\displaystyle —NHCH(CH_3)CO_2H}{\overset{}{NHCH(CH_2CONH_2)CO—}}$$

Число теоретически возможных стереоизомеров для пептида с известной последовательностью аминокислот может быть выражено величиной 2^n, где n указывает на число асимметрических центров. У всех аминокислот, которые, как установлено в настоящее время, входят в состав природных пептидов и белков, α-углеродный атом является асимметрическим (единственное исключение составляет глицин). У некоторых других аминокислот, например

Таблица 52

Формулы радикалов и сокращенные названия α-аминокислот

Аминокислота	Наавание радикала	Формула	Сокращенное название
Аланин	Аланил	$CH_3CH(NH_2)CO—$	Ala
Аргинин	Аргинил	$NH_2C(=NH)NH(CH_2)_3CH(NH_2)CO—$	Arg
Аспарагин	Аспарагинил	$NH_2OCCH_2CH(NH_2)CO—$	Asp—NH_2
Аспарагиновая кислота	Аспартил	$HO_2CCH_2CH(NH_2)CO—$	Asp
Тоже	β-Аспартил	$—OCCH_2CH(NH_2)CO_2H$	β-Asp
«	Аспартоил	$—OCCH_2CH(NH_2)CO—$	—
Цистеин	Цистеинил	$HSCH_2CH(NH_2)CO—$	CySH
Цистин	Цистил	$[—SCH_2CH(NH_2)CO—]_2$	$(CyS—)_2$
Глутамин	Глутаминил	$NH_2OCCH_2CH_2CH(NH_2)CO—$	Glu—NH_2
Глутаминовая кислота	Глутамил	$HO_2CCH_2CH_2CH(NH_2)CO—$	Glu
Тоже	γ-Глутамил	$—OCCH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$	γ-Glu
«	Глутамоил	$—OCCH_2CH_2CH(NH_2)CO—$	—
Глицин	Глицил	$CH_2(NH_2)CO—$	Gly
Гистидин	Гистидил	$HC=CCH_2CH(NH_2)CO—$ (N, NH, CH)	His
Оксилизин	Оксилизил	$NH_2CH_2CH(OH)CH_2CH_2CH(NH_2)CO—$	Hylys
Оксипролин	Оксипролил	$NHCH_2CH(OH)CH_2CHCO—$	Hypro
Изолейцин	Изолейцил	$CH_3CH_2CH(CH_3)CH(NH_2)CO—$	Ileu
Лейцин	Лейцил	$(CH_3)_2CHCH_2CH(NH_2)CO—$	Leu
Лизин	Лизил	$NH_2(CH_2)_4CH(NH_2)CO—$	Lys
Метионин	Метионил	$CH_3SCH_2CH_2CH(NH_2)CO—$	Met
Норлейцин	Норлейцил	$CH_3(CH_2)_3CH(NH_2)CO—$	Nleu
Норвалин	Норвалил	$CH_3(CH_2)_2CH(NH_2)CO—$	Nval
Орнитин	Орнитил	$NH_2(CH_2)_3CH(NH_2)CO—$	Orn
Фенилаланин	Фенилаланил	$C_6H_5CH_2CH(NH_2)CO—$	Phe
Пролин	Пролил	$NHCH_2CH_2CH_2CHCO—$	Pro
Серин	Серил	$HOCH_2CH(NH_2)CO—$	Ser
Таурин	Таурил	$NH_2CH_2CH_2SO_2—$	Tau
Треонин	Треонил	$CH_3CH(OH)(CH)(NH_2)CO—$	Thr
Тиропин	Тиронил	HO—⟨⟩—O—⟨⟩—$CH_2CH(NH_2)CO—$	Thy
Триптофан	Триптофил	⟨⟩—$CH_2CH(NH_2)CO—$, NH	Try
Тирозин	Тирозил	n-$HOC_6H_4CH_2CH(NH_2)CO—$	Tyr
Валин	Валил	$(CH_3)_2CHCH(NH_2)CO—$	Val

у диасимметричных «изолейцинов», «оксипролинов» и «треонинов», имеются дополнительные центры асимметрии. Вследствие такого рода асимметрии у пептидов с определенной аминокислотной последовательностью становит-

ся возможной изомерия, обусловленная различным набором конфигураций аминокислотных остатков. В качестве примера стереоизомерии этого типа можно привести лейцилаланилсерин, для которого теоретически возможно 2^3 оптических изомера (поскольку в соединении имеется три асимметрических центра). Эти изомеры могут быть представлены следующим образом:

А.	*L-L-L*	*L-D-D*	*L-L-D*	*L-D-L*
Б.	*D-D-D*	*D-L-L*	*D-D-L*	*D-L-D*
	III	IV	V	VI

Формы А и Б любой данной пары являются оптическими антиподами, а каждая пара (III, IV, V, VI) представляет собой один из четырех возможных рацематов.

Сокращенные наименования. Из сказанного выше легко понять, что при догматическом использовании общепринятой номенклатуры пептидов она может стать весьма громоздкой в тех случаях, когда имеется большое число аминокислотных остатков. Для упрощения этой номенклатуры Бранд [7] предложил пользоваться сокращенными названиями. Так, для обозначения —NHCHRCO— остатка данной аминокислоты было рекомендовано использовать первые три буквы ее тривиального названия, например Gly и Ala для остатков глицина и аланина соответственно. В качестве иллюстрации таких сокращений для пептида, называемого глициллейцилглицилаланином, может быть принято обозначение Gly_2 Ala Leu. Более полное и точное написание этого соединения в виде H-Gly-Leu-Gly-Ala-OH может быть сделано на основании принятого недавно правила, в силу которого в тех случаях, когда последовательность аминокислотных остатков известна, соответствующие символы располагают в должной последовательности и связывают дефисами (ср. с работой [8]). Если встречаются остатки аспарагина, глутамина, цистеина или полуцистина, то их обычно изображают соответственно в виде Asp-NH_2, Glu-NH_2, CySH и CyS-. Функциональные производные аминокислот, например γ-этиловый эфир глутаминовой кислоты и S-бензилцистеин, можно аналогично изобразить как Glu-OEt и CyS-Bz; с другой стороны, структурные изомеры, например остатки лейцина, изолейцина и норлейцина, соответственно этому обозначают как Leu, Ileu и Nleu. Сокращения, всюду принятые для некоторых из обычных аминокислот, приведены в табл. 52.

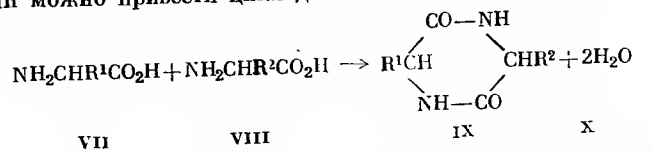
Классификация пептидов. По своему строению пептиды могут быть классифицированы в соответствии с тем, содержат ли они нормальные или аномальные пептидные связи, с одной стороны, и являются ли они линейными или циклическими — с другой. Эта классификация рассматривается ниже.

а) *Нормальные пептиды с открытой цепью* содержат x молекул аминокислот, которые соединены пептидными связями, включающими их α-амино- или α-карбоксильные группы, или те и другие, путем отщепления $x - 1$ молекул воды:

$$NH_2CHR^1CO_2H + NH_2CHR^2CO_2H + NH_2CHR^3CO_2H + NH_2CHR^4CO_2H \longrightarrow$$
$$\longrightarrow NH_2CHR^1CO{-}NHCHR^2CO{-}NHCHR^3CO{-}NHCHR^4CO_2H + 3H_2O$$

Поскольку концевые остатки пептидов такого типа содержат свободную α-аминогруппу или α-карбоксильную группу, то эти пептиды по своей природе являются диполями. Среди них встречаются полипептиды с прямой цепью, в которой имеется только одна концевая α-аминогруппа и одна α-карбоксильная группа, например в случае глицилаланилглицина, или полипептиды с разветвленной цепью, содержащей несколько концевых α-амино- и α-карбоксильных групп, обусловленных присутствием остатка диаминодикарбоновой кислоты, например цистина, который может служить мостиком между двумя пептидными цепями. Хотя большинство до сих пор изученных белков являются, по-видимому, полипептидами с нормальной открытой цепью рассмотренного выше типа, все же имеющихся данных еще недостаточно, чтобы полностью исключить существование амидных связей, образованных ω-карбоксильными группами аспарагиновой или глутаминовой кислоты или основными группировками боковой цепи аргинина, лизина или гистидина.

б) *В нормальных циклических полипептидах* x молекул аминокислот соединены между собой пептидной связью, образованной соответствующими их α-амино- и α-карбоксильными группами путем отщепления x молекул воды. Кислотные или основные свойства пептидов этого типа зависят от наличия соответствующих функциональных групп в боковых цепях аминокислотных остатков, участвующих в образовании цикла, поскольку в циклопептидах свободные α-карбоксильные и α-аминогруппы отсутствуют. Простейшими представителями этого класса соединений являются 2,5-дикетопиперазины (IX), которые можно рассматривать как продукты конденсации двух аминокислот (VII и VIII) с потерей двух молекул воды. В качестве примера несколько более сложного представителя этого класса соединений можно привести циклодекапептид — антибиотик грамицидин С.



в) К полипептидам с *аномальной пептидной связью* относятся соединения, в которых амидная связь, соединяющая аминокислотные компоненты, не включает в себя одновременно и α-амино- и α-карбоксильную группы; другими словами, в образовании таких связей могут участвовать не только α-аминокислоты. Так, к этому типу относятся амидные связи, образованные ω-карбоксильными группами глутаминовой или аспарагиновой кислоты или ω-основными группировками лизина, аргинина и гистидина; сюда же относятся пептидные связи, в которых участвуют амино- и карбоксильные группы не содержащихся в белке аминокислот, например β-аланина. Представителями соединений первого типа являются ε-глициллизин (XI) и γ-глутамилглицин (XII), в качестве примера второго типа можно привести карнозин (β-аланилгистидин) (XIII). Часто нормальные и аномальные пептидные связи находятся в одной и той же молекуле, как, например, в глутатионе (γ-глутамилцистеинилглицин).

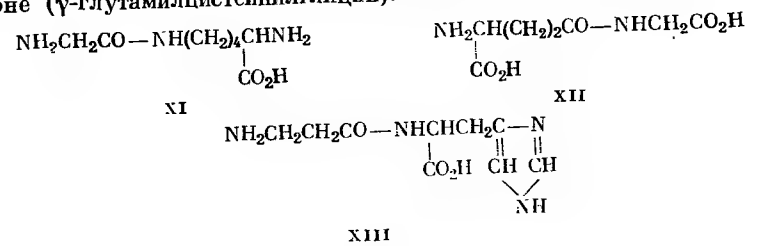
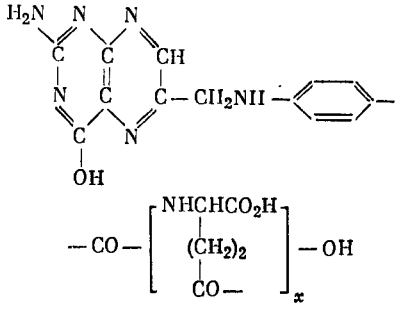
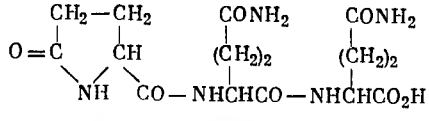
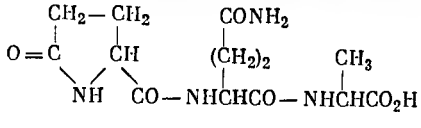
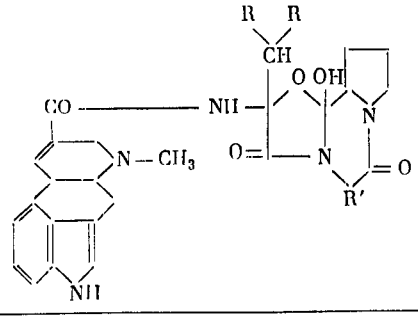
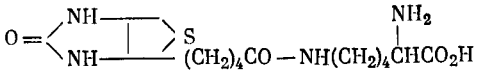
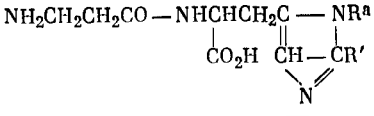
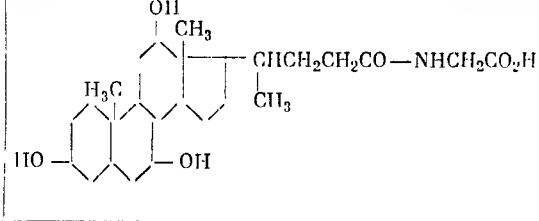


Таблица 53

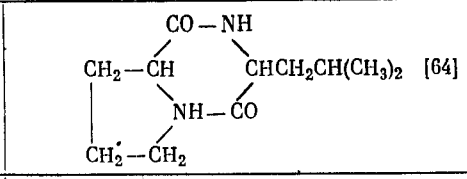
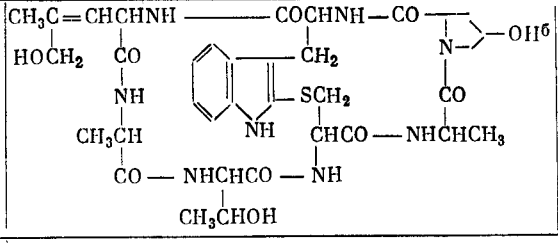
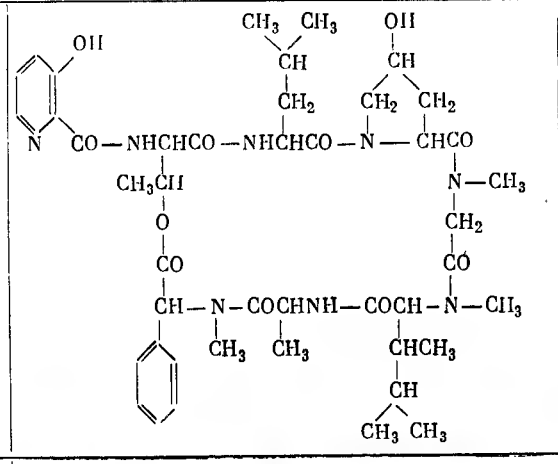
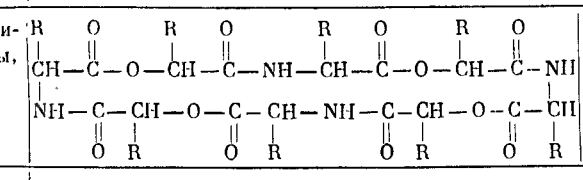
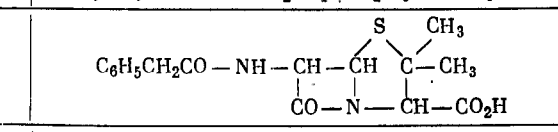
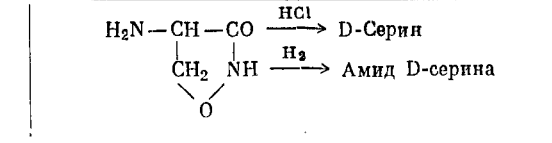
Природные ациламинокислоты, пептиды и родственные соединения

Соединение	Формула	Источник получения и синтез
Глутатион (γ-L-глутамил-L-цистеинилглицин)	$HO_2CCH(NH_2)CH_2CH_2CO-NHCH(CH_2SH)CO-NHCH_2CO_2H$	Дрожжи, мышцы, печень [9—12]
Птероил-L-глутаминовая кислота ($x=1$) (*L* casei-фактор) Птероилтри-L-глутаминовая кислота ($x=3$) (фактор брожения) Птероилгепта-L-глутаминовая кислота		Печень [13, 14] Ферментационный раствор *Corynebacterium* [15, 16] Дрожжи [17, 18]
γ-L-Глутамил-S-метил-L-цистеин (и его сульфоксид)	$HO_2CCH(NH_2)CH_2CH_2CO-NHCH(CH_2SCH_3)CO_2H$ (и $CH_2S(\rightarrow O)CH_3$)	Сухие бобы [19, 19a] (*Phaseolus lunatus L*)
L-Пироглутамил-L-глутаминил-L-глутамин		*Pelvetia fastigiata* [20, 20a] (бурые морские водоросли)
Эйзенин (L-пироглутамил-L-глутаминил-L-аланин)		*Eisenia bycyclis Setchell* (бурые морские водоросли) [21, 22]
γ-Глутамилвалилглутаминовая кислота	$HO_2CCH(NH_2)CH_2CH_2CO-NHCH(CH_2CH_2CO_2H)CO-NHCH(CH(CH_3)_2)CO_2H$	*Juncus conglomeratus*, *J. effusus*, *J. filiformis* [22a]
Ацетиламинокислоты L-глутаминовая кислота L-аспарагиновая кислота	$CH_3CO-NHCHRCO_2H$ $R=CH_2CH_2CO_2H$ $R=CH_2CO_2H$	Экстракт бычьей печени [23, 24] Мозг кошки [25]
Фенацетиламинокислоты глицин L-глутамин L-орнитин	$C_6H_5CH_2CO-NHCHRCO_2H$ $R=H$ $R=CH_2CH_2CONH_2$ $R=CH_2CH_2CH_2NH-COCH_2C_6H_5$	Моча собаки и кролика [26] Моча человека и человекообразной обезьяны [27] Куриный помет [28]
Бензоиламинокислоты: глицин L-орнитин	$C_6H_5CO-NHCHRCO_2H$ $R=H$ $R=CH_2CH_2CH_2NH-CO-C_6H_5$	Моча млекопитающих [29, 30] Птичий помет [31, 32]
Меркаптуровые кислоты	$CH_3CO-NHCH(CH_2SR)CO_2H$ $R=C_6H_4Br$, C_6H_4Cl и т. д.	Моча человека [33, 34]

Продолжение табл. 53

Соединение	Формула	Источник получения и синтез
Эргоалкалоиды: эрготамин ($R=H$; $R'=CH_2C_6H_5$) эргозин [$R=H$; $R'=CH_2CH(CH_3)_2$] эргокристин [$R=CH_3$; $R'=CH_2C_6H_5$)] эргокриптин [$R=CH_3$; $R'=CH_2CH(CH_3)_2$] эргокорнин [$R=CH_3$; $R'=CH(CH_3)_2$]		*Claviceps purpurea* [35—37] (спорынья ржи)
Фумароил-DL-аланин	$HO_2CCH=CHCO-NHCH(CH_3)CO_2H$	*Penicillium resticulosum* [38]
Ликомаразмин	$HO_2CC(CH_3)(OH)-NHCH_2CO-NHCH(CH_2CONH_2)CO_2H$ (?)	*Fusarium licoperspici* [39—41a] (фитопатогенные грибы)
Биоцитин (ε-биотинил-L-лизин)		Дрожжи [42, 43]
Карнозин ($R=R'=H$) Ансерия ($R=CH_3$; $R'=H$) Офидин ($R=H$; $R'=CH_3$)		Экстракт мускулов [44—47] Мускулы гуся [48—51] Мускулы змеи [52—54]
Гликохолевая кислота		Желчь (ср. с работой [55])
Офтальмовая кислота (L-γ-глутамил-L-α-амино-*н*-бутирилглицин)	$HO_2CCH(NH_2)CH_2CH_2CO-NHCH(CH_2CH_3)CO-NHCH_2CO_2H$	Хрусталик глаза теленка [56, 57]
Порофтальмовая кислота (L-γ-глутамил-L-аланилглицин)	$HO_2CCH(NH_2)CH_2CH_2CO-NHCH(CH_3)CO-NHCH_2CO_2H$	Хрусталик глаза теленка [58]
Гипертензин I (ангиотонин)	H-Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-His-Leu-OH[a] H-Asp-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-His-Leu-OH[a]	Действием ренина кролика на бычью сыворотку [59, 60] Действием ренина свиньи на лошадиную сыворотку [61—63]
Гипертензин II (активная форма)	H-Asp-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OH[a]	Из гипертензина I (лошадь) действием фермента плазмы [62, 63]

Продолжение табл. 53

Соединение	Формула	Источник получения и синтез
Ангидрид L-лейцил-L-пролина	 [64]	Кора надпочечников [65] Коконы шелковичного червя [66]
Фаллоидин		*Amanita phalloides* [67—69] (ядовитый гриб)
Этамицин [в]		*Streptomyces griseus* [69а]
Грамицидин С	*цикло*-(L-Orn-L-Leu-D-Phe-L-Pro-L-Val-L-Orn-L-Leu--D-Phe-L-Pro-L-Val)	*Bacillus brevis* [70—73]
Тироцидин А	*цикло*-(L-Orn-L-Leu-D-Phe-L-Pro-L-Phe-D-Phe-L-Asp-NH_2-L-Glu-NH_2-L-Tyr-L-Val)	*Bacillus brevis* [74—76]
Полимиксин В	*цикло*-[(L-Thr-D-Phe-L-Dab-L-Leu-L-Dab-L-Thr-D-Dab-L-Dab-(γ-N-d-Moct)-(L-Dab)$_2$] [г]	*Bacillus polymyxa* [77, 78]
Амидомицин (состоит из остатков D-валина и D-α-оксиизовалериановой кислоты, где R=$CH(CH_3)_2$		*Streptomyces* [79]
Окситоцин	H-Cys-Tyr-Ileu-Glu-NH_2-Asp-NH_2-Cys-Pro-Leu-Gly-NH_2^a	Задняя доля гипофиза [80—84]
Вазопрессин (бычий)	H-Cys-Tyr-Phe-Glu-NH_2-Asp-NH_2-Cys-Pro-Arg-Gly-NH_2^a	Задняя доля гипофиза [85]
Вазопрессин (свиной)	H-Cys-Tyr-Phe-Glu-NH_2-Asp-NH_2-Cys-Pro-Lys-Gly-NH_2^a	Задняя доля гипофиза [86—89]
Бензилпенициллин		*Penicillium notatum* [90, 91]
Циклосерин (оксамицин)		*Streptomyces orchidaceous* [92, 93]

[а] Все остатки имеют L-конфигурацию.
[б] См. книгу [1057], раздел 16—5.
[в] Дана следующая аминокислотная последовательность: 3-оксипиколиновая кислота, L-треонин, D-лейцин, D-алло-оксипролин, саркозин, L-β-N-диметиллейцин, L-аланин и L-фенилсаркозин.
[г] Dab=α,γ-диамино-L-бутирин; Moct=S-метилоктан-1-оил.

2. Примеры природных пептидов. Многие простые линейные полипептиды были выделены *in vitro* с помощью частичного кислотного гидролиза и энзиматического расщепления белков, особенно после появления методов бумажной и ионообменной хроматографии. Энзиматическое расщепление белков *in vivo*, вызываемое автолизом тканей, действием бактерий, процессами пищеварения и т. п., несомненно приводит к образованию разнообразных пептидов близкой природы.

Аналогичные по строению пептиды обнаружены в относительно малых количествах в плазме крови, в красных кровяных шариках, мышцах, печени и в других тканях, а также в несколько больших количествах в моче. Наличие в природе пептидов такого типа может быть главным образом связано с тем, что они являются конечными продуктами метаболизма белков или промежуточными продуктами взаимных превращений аминокислот и белков. Однако другие природные пептиды обладают, по-видимому, более определенной физиологической функцией в качестве коэнзимов, гормонов или антибиотиков и их назначением является, вероятно, создание наиболее оптимальных условий для организма. В табл. 53 приведены некоторые пептиды, строение которых установлено с той или иной степенью достоверности. Присутствие в этих соединениях аномальных пептидных связей или остатков аминокислот необычной структуры или конфигурации, возможно, придает их молекулам исключительно большую устойчивость к гидролитическому действию протеолитических энзимов.

3. Исторический обзор. Синтетические пептиды могут служить субстратами при изучении специфичности и характера действия протеаз и пептидаз, а также модельными соединениями при исследовании строения, физических свойств и химических реакций белков. В связи с этим разработка удобных методов пептидного синтеза приобрела решающее значение в изучении строения и функций белков. Кроме того, с чисто практической точки зрения эти же самые методы могут быть использованы не только для однозначного доказательства строения таких природных соединений, как полипептидные антибиотики, гормоны и коэнзимы, но и для промышленного производства этих соединений или их соответствующих аналогов. При этом становятся в принципе доступными многие из соединений, обладающих различной степенью и характером биологического действия.

Получение макромолекулярных полипептидов. Современные исследования по синтезу пептидов ведутся главным образом по двум параллельным направлениям, а именно: синтез низших кристаллических полипептидов с определенными строением и свойствами, с одной стороны, и получение аморфных макромолекулярных полипептидов, сравнимых по величине с белковыми молекулами, но имеющих неопределенный состав, с другой стороны. Первые экспериментальные исследования по синтезу макромолекулярных пептидов, относящиеся к началу 1870 г., были основаны на предположении, что аминокислоты, которые входят в состав молекулы белка, соединены между собой амидными связями, образованными за счет α-карбоксильной группы одной аминокислоты и α-аминогруппы другой. Эти исследования, начатые Шалем [94] в 1871 г. и продолженные примерно через десять лет Гримо [95], были связаны с изучением конденсации аспарагиновой кислоты и аспарагина с образованием смеси полимерных продуктов, дававших положительную биуретовую реакцию, сходную с реакцией, проявляемой белками. В 1883 г. Курциусом [96, 97] было отмечено, что при стоянии из раствора этилового эфира глицина в сухом эфире осаждается вещество, которое дает реакцию, аналогичную биуретовой. Полимерные

соединения такого же типа были получены Шиффом [98] в 1897 г. при термическом разложении свободной аспарагиновой кислоты. В течение того же десятилетия был опубликован и ряд других относящихся к этой проблеме исследований, а именно: Шютценбергером [99] о конденсации различных аминокислот с мочевиной при нагревании в присутствии пятиокиси фосфора, Лилиенфельдом [100] о полимеризации смесей эфиров аминокислот под действием различных конденсирующих агентов, а также Бальбиано и Трасциатти [101] о превращении глицина в горячем растворе глицерина в роговидный нерастворимый в воде полимер. Особенно следует отметить среди этих ранних исследований работу Лёйкса [102], которая послужила основой многих последующих работ в этой области. В 1906 г. Лёйкс показал, что N-карбоксиангидриды аминокислот способны легко полимеризоваться в определенных условиях.

Несмотря на внешнее сходство полимерных соединений, полученных упомянутыми выше методами, с белковыми молекулами, исследования в этом направлении практически не развивались. Вскоре стало очевидным, что не все индивидуальные полимеры, содержащиеся в полимерной смеси, обязательно должны иметь цепь одной и той же длины. Помимо явного отсутствия химической индивидуальности, эти вещества были аморфны, плохо растворимы в воде и обычно трудно поддавались очистке, т. е. обладали свойствами, не способствовавшими их легкой идентификации. Все эти неблагоприятные свойства полимерных смесей служили серьезным препятствием для их использования в качестве моделей белков. Распространенное в то время отношение к такого рода соединениям являлось отражением мнения, высказанного в 1901 г. Фишером и Форно [103]:

«Все они являются аморфными, трудно характеризуемыми веществами, о строении которых можно сказать так же мало, как и о степени их родства с природными белками. При желании добиться достоверных результатов на этом трудном поприще необходимо сначала найти метод, позволяющий путем ангидридизации последовательно присоединять молекулы различных аминокислот друг к другу через контролируемые промежуточные стадии».

В дальнейшем Фишер [1] выразил в более мягкой форме свое отношение к синтетическим реакциям полимеризации, проводимым в жестких условиях, и писал: «Такого рода синтез (полимеризацию)... можно сравнить с промчавшимся через страну в скором поезде путешественником, который потом почти ничего не может сообщить о своей поездке», тогда как «дело обстоит совсем по-другому, когда синтез проводят постепенно и молекулу строят последовательными стадиями... Тогда синтез уподобляется пешеходу, который шаг за шагом с напряженным вниманием выбирает себе дорогу и вынужден проверить много путей, пока не найдет правильного направления. В течение своего длительного утомительного путешествия он не только основательно изучает географию и топографию страны, но и знакомится с языком и культурой ее населения. Когда же он, наконец, достигает своей цели, то уже хорошо ориентируется во всей стране, и если он напишет книгу о своем путешествии, то это путешествие станет доступным и другим людям». Этим заявлением самого одаренного химика того времени был вынесен смертный приговор ранним методам полимеризации аминокислот, и в будущем усилия исследователей концентрировались главным образом на развитии методов, позволяющих ступенчато синтезировать пептидные цепи из соответствующих аминокислот.

Хотя полимеризации аминокислот и не уделялось достаточного внимания в период 1906—1947 гг., тем не менее за это время появилось несколько

весьма значительных исследований в этом направлении. Среди них следует указать исследования Вессели [104], которые способствовали выяснению механизма полимеризации N-карбоксиангидридов аминокислот (ангидридов Лёйкса), работы Френкеля и Качальского [105—107], а также Паксу и Вильсона [108—110], касающиеся получения эфиров полиаминокислот из соответствующей аминокислоты и эфиров пептидов. Однако в 1947 г. снова возрос интерес к макромолекулярным полипептидам как к моделям белковых веществ. Это произошло в значительной мере под влиянием краткого сообщения Вудворда и Шрамма [111] о том, что с помощью усовершенствованного метода Лёйкса [102] могут быть получены сложные линейные пептиды; этому способствовало также введение новых физических и химических методов анализа таких полимеров. С тех пор появилось очень много исследований, касающихся таких важных вопросов, как кинетика и механизм полимеризации, получение водорастворимых полимеров, а также чувствительность полиаминокислот к действию протеолитических энзимов. Эти вопросы очень подробно изложены в прекрасном обзоре Качальского [112] и в исчерпывающей работе Бамфорда, Эллиотта и Ханби [113].

Мономерами, обычно применяемыми в процессе полимеризации при синтезе макромолекулярных полипептидов, могут служить или однородные аминокислоты, дипептиды или трипептиды, или же их гетерогенные смеси. Первая группа этих соединений приводит к образованию полимера, состоящего из остатков одной, а в лучшем случае двух или трех различных аминокислот, которые в качестве структурных единиц повторяются в полимерной цепи. Если же мономерами служат гетерогенные смеси, то в полимерную цепь может включиться более разнообразный набор аминокислотных остатков, образующих неопределенную последовательность, которую ни регулировать, ни предусмотреть невозможно. Поскольку белки представляют собой макромолекулы, состоящие из остатков разнообразных аминокислот различной степени сложности, но, весьма вероятно, расположенных в определенной последовательности, то проблема строения белка оказывается гораздо более сложной, чем она представляется лишь при изучении синтетических макромолекул. Несмотря на эти очевидные недостатки, изучение растворимости, дифракции рентгеновских лучей и ИК-спектров этих синтетических полимеров, а также их отношения к протеолитическим энзимам тем не менее способствует выяснению физического строения, химических реакций и биологического поведения природных белков.

Ступенчатый синтез пептидов. Синтез первого кристаллического, хорошо охарактеризованного производного пептида из аминокислотных компонентов следует приписать Курциусу [114], показавшему в 1882 г., что при взаимодействии хлористого бензоила с серебряной солью глицина образуется наряду с другими продуктами реакции N-замещенный дипептид — бензоилглицилглицин. Спустя почти 20 лет Фишер и Форно [130] описали получение соответствующего свободного дипептида путем парциального кислотного гидролиза 2,5-дикетопиперазина. Сразу после этого сообщения между Фишером и Курциусом возник острый спор в связи с вопросом приоритета. Фишер утверждал, что хотя Курциус несомненно получил пептидное производное точно определенного строения, однако использованный им метод синтеза не носит общего характера. Это заставило Курциуса [115—119] возобновить в 1902 г. свои исследования по синтезу различных бензоилированных производных пептидов. Целый ряд таких пептидов был получен конденсацией азидов бензоилированных аминокислот или пептидов с другими аминокислотами. Однако существенно, что все попытки получить

пептид со свободной аминогруппой с помощью избирательного отщепления бензоильной группы приводили к полному гидролизу неустойчивых пептидных связей. Таким образом, хотя честь первого синтеза производного пептида безусловно принадлежит Курциусу, тем не менее первый общий метод синтеза свободных пептидов связан с именами Фишера и Форно.

Хотя многие простые пептиды и могут быть получены гидролизом замещенных 2,5-дикетопиперазинов, все же Фишер вскоре понял, что этот метод имеет ряд серьезных ограничений, из которых не самым последним является возможность его использования для получения только дипептидов. Поиски более совершенных путей синтеза заставили Фишера [120] в 1903 г. испытать метод, аналогичный примененному Курциусом [115—119] для получения бензоилированных производных пептидов. По этому методу свободная аминокислота превращалась в соответствующее карбэтокси- или карбометоксипроизводное, из которого в свою очередь получался хлорангидрид, а последний конденсировался с эфиром аминокислоты, приводя к эфиру ацилдипептида; при омылении последнего была получена соответствующая кислота. Однако, как и в случае экспериментов, проведенных ранее Курциусом, все попытки получить свободный пептид путем избирательного гидролиза защитной ацильной группы оказались безуспешными. В связи с этим все усилия были сконцентрированы на разработке других методов синтеза пептидов и поиски легко снимаемой ацильной защитной группы были временно оставлены.

В 1903 г. Фишер и Отто [121] описали метод, предусматривающий использование в пептидном синтезе в качестве защитных групп α-галогенацильных заместителей вместо упомянутых выше карбалкоксигрупп, благодаря чему оказалось возможным избежать заключительной стадии гидролиза при пептидном синтезе. В данном случае на конечном этапе синтеза превращение α-галогенацильного заместителя в N-концевой аминокислотный остаток пептидной цепи осуществлялось действием водного или спиртового раствора аммиака. С помощью отмеченных двух методов, а также имевшегося в их распоряжении дикетопиперазинового метода Фишер и его сотрудники не только изучили строение синтетических пептидов, напоминавших по своему характеру молекулы белка, но и осуществили синтез октадекапептида, достигнув, таким образом, намеченной цели (ср. с работой [122]). Однако в этом самом по себе замечательном достижении синтетической химии отчетливо проявились недостатки ранних методов пептидного синтеза, так как ограниченный аминокислотный состав полученного октадекапептида, состоящего только из остатков лейцина и глицина, наглядно показывал возможность применения этих методов для синтеза пептидов, содержащих лишь простейшие аминокислоты. Обычно в этих пептидах отсутствовали такие реакционноспособные группировки, как гуанидиновый остаток аргинина, ε-аминогруппа лизина, имидазольное кольцо гистидина и ω-карбоксильные группы глутаминовой и аспарагиновой кислот, принадлежащие к числу свободных активных групп природных белков. Мечта Фишера о синтезе белка была еще далека от действительности.

После смерти Фишера (1919 г.) не было предложено общего метода синтеза пептидов, который позволял бы включать в пептидную цепь более сложные аминокислоты. Правда, широкое применение Бергманом с сотрудниками [123—125] азлактонов как промежуточных соединений при пептидном синтезе в течение 1920 г. привело к получению нескольких пептидов, содержащих остатки двухосновных аминокислот и диаминокислот; однако и этот метод синтеза пептидов не мог являться общим. Несмотря на упомянутые ранее неудачи, исследователей настойчиво преследовала мысль, что

эта цель была бы достигнута, если бы удалось найти подходящую, легко снимаемую ацильную защитную группу. Действительно, еще Фишер [126] детально исследовал ацильные группы, которые можно было бы удалять не гидролитически, а каким-либо другим способом, и показал в 1915 г., что действие смеси теплого иодистого фосфония и иодистоводородной кислоты приводит к восстановительному отщеплению *п*-толуолсульфонильной (тозильной) группы, соединенной амидной связью с аминокислотой. Хотя 11 лет спустя Шёнхеймер [127] применял эту реакцию для восстановительного отщепления тозильной группы на конечной стадии синтеза нескольких простых пептидов, дальнейшее использование этой защитной группы для синтеза более сложных пептидов натолкнулось на значительные трудности, так как для ее отщепления требуются весьма жесткие условия.

Тридцатилетние поиски ацильной защитной группы, удовлетворяющей требованиям пептидного синтеза, наконец увенчались успехом в 1932 г. благодаря открытию Бергманом и Зервасом [128] «карбобензокси-метода». Введение этого выдающегося метода поистине открыло новую эру в химии пептидов и создало возможность синтеза ряда более сложных, до того времени недоступных пептидов. Вкратце метод заключается в первоначальной конденсации бензилоксикарбониламинокислот («карбобензоксиаминокислот») с другими аминокислотами с помощью классического азидного или хлорангидридного метода; конденсация приводит к соответствующему карбобензоксипептиду. Превращение последнего в свободный пептид может быть осуществлено отщеплением карбобензоксигруппы каталитическим гидрированием в присутствии палладиевой черни. Этим способом ацильная группа может быть легко и количественно удалена в исключительно мягких условиях, и поэтому выделение свободного пептида в данном случае не сопряжено с опасностью разрыва чувствительных пептидных связей. Подробнее этот метод рассмотрен ниже (раздел 14). Здесь достаточно лишь отметить, что за прошедшее время с помощью метода Бергмана и Зерваса в его оригинальном виде, а также на основе его последующих модификаций были синтезированы сотни различных пептидов, которые содержали все разнообразные аминокислоты, входящие в состав белков. Этот метод даже в настоящее время остается самым распространенным из всех применяемых в синтезе пептидов.

Располагая теперь потенциально неограниченным числом различных синтетических пептидов в качестве субстратов энзимов, Бергман и его сотрудники приступили к классической серии исследований, целью которых была классификация пептидаз и протеаз в соответствии с их способностью расщеплять специфические пептидные связи. Несмотря на то что такие небольшие синтетические субстраты, несомненно, весьма существенно отличались от макромолекулярных полипептидов, встречающихся *in vivo*, тем не менее уже в то время господствовало мнение, что чувствительность этих синтетических модельных соединений к действию различных протеаз в значительной степени отражает поведение самой белковой молекулы. Почти не вызывает сомнения, что эти работы действительно дали ценную информацию о структуре белка и заложили фундамент, на который опираются современные исследования взаимосвязи протеаз и субстрата. К сожалению, эти работы не могут быть подробно изложены в настоящей монографии; однако значительная часть вопросов из этой области детально рассмотрена в прекрасных обзорах [129—133] (ср. [1057], гл. 16).

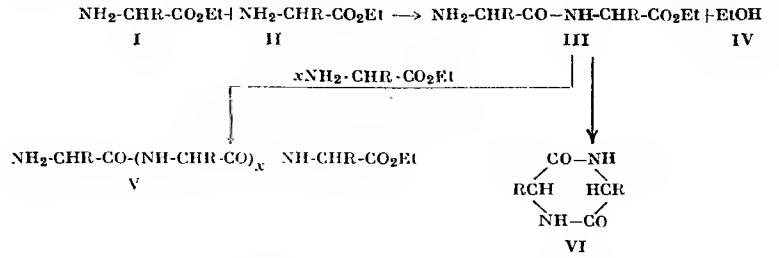
В течение сороковых годов было открыто много антибиотиков и других природных соединений полипептидной структуры, что в значительной мере стимулировало исследования, направленные на усовершенствование существующих, а также разработку новых методов синтеза пептидов. Этот период ознаменовался не только открытием других методов отщепления тозильной и карбобензоксигрупп, но и успешным введением в синтетическую пептидную химию ряда новых важных защитных групп, таких, как фталоильная, формильная, трифенилметильная (тритильная) и трифторацетильная. Кроме того, были также приложены усилия по изысканию и разработке более совершенных способов конденсации, чем классические хлорангидридный и азидный методы, и был найден целый ряд упрощенных реакций конденсации аминокислот с участием таких промежуточных соединений, как смешанные ангидриды аминокислот с органическими и неорганическими кислотами, «активированные эфиры», а также таких реагентов, как «карбодиимид» и другие. Плодотворность этих исследований подтверждается большими успехами, достигнутыми в отношении синтеза многих важных природных полипептидов, например грамицидина С, окситоцина и вазопрессина, а также разнообразием известных в настоящее время синтезов глутатиона. Окажутся ли современные методы пригодными для осуществления ступенчатого синтеза гораздо более сложной и неустойчивой белковой молекулы, в настоящее время можно ответить только предположительно. Несмотря на такую неопределенность, во всем мире в разных лабораториях ведутся исследования в области синтеза природных белков, например инсулина, строение которого установлено путем изучения продуктов его разложения (см. [1057], гл. 16). Почти нет сомнения, что мечта Фишера о синтезе белка приблизилась к ее осуществлению по крайней мере на целую ступень.

Содержание этой главы. Синтетические методы, применяемые для получения пептидов, рассматриваются в нижеследующих разделах как с точки зрения их исторической перспективы, так и с точки зрения их отношений и связи друг с другом. Выполнение последней задачи, по крайней мере частичное, могло быть достигнуто разделением всех известных методов на категории на основании того принципа, требуется ли на последней стадии синтеза избирательное отщепление ацильной защитной группы или нет. Соответственно этому все методы классифицируются на «классические методы синтеза пептидов» и «методы синтеза пептидов с использованием селективно удаляемых ацильных защитных групп». Поскольку в первой группе рассматриваются исследования, продолжающиеся до настоящего времени, такая классификация, конечно, весьма произвольна. Однако всюду, где это возможно, при изложении материала в каждом разделе соблюдается строгая хронологическая последовательность. В дополнительных разделах главы рассмотрены методы синтеза пептидов, содержащих специфические аминокислоты, входящие в состав белков, а также синтетические методы, которые применялись для получения ряда биологически важных пептидов.

КЛАССИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СИНТЕЗА ПЕПТИДОВ

4. Конденсация α-аминокислот или их эфиров. *Принцип.* Образование амида обычной жирной кислоты при взаимодействии ее эфира с первичным или вторичным амином представляет собой давно известную реакцию. Однако, когда в молекуле аналогичного реагента присутствуют одновременно амино- и сложноэфирная группы, как, например, в случае эфира α-аминокислоты, то продукт конденсации III, образующийся при связывании двух молекул I и II, также является способным к дальнейшим реакциям благодаря присутствию в нем свободной амино- и сложноэфирной групп и может, следовательно, взаимодействовать далее с другой молекулой реагента I или с другой

такой же молекулой III. Многократное повторение этого процесса, называемое *поликонденсацией*, приводит к образованию соответствующего *поликонденсата* (*полимера*). В образующихся таким путем линейных молекулах (V) наблюдается характерная повторяемость структурных элементов. Поскольку соединения V образуются с потерей $x + 1$ молекул спирта, то они по своему составу заметно отличаются от исходных молекул.

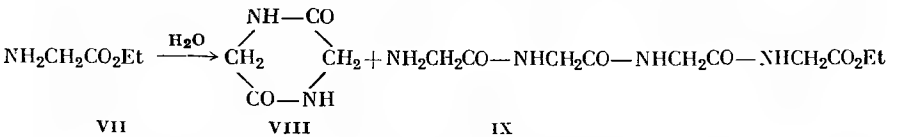


Величина молекулы продукта конденсации может быть в значительной степени лимитирована одновременно происходящим образованием циклических соединений. Так, например, в тех случаях, когда имеется возможность образования пяти- или шестичленного цикла, процесс циклизации, как правило, весьма успешно конкурирует при обычных условиях реакции с процессом линейной поликонденсации. Поскольку возникновение шестичленного 2,5-дикетопиперазинового цикла VI из промежуточного эфира дипептида III при данных условиях вполне возможно, то преимущественное образование линейного или циклического соединения определяется выбором соответствующих экспериментальных условий. Следует указать, что направление реакции может быть изменено путем создания специальных условий. Так, например, применение очень разбавленных растворов может привести к преимущественному образованию больших циклов.

Помимо циклообразования, величину молекул линейных полимеров может лимитировать и ряд других факторов. К числу таких факторов, между прочим, относится случайное взаимодействие активных концевых групп или заметное понижение концентрации свободных реакционноспособных групп по мере течения реакции. Кроме того, поскольку увеличение размера полимера сопровождается увеличением вязкости, то подвижность молекул и, следовательно, скорость реакции резко снижаются. Влияние ряда других факторов на величину молекулы линейного полимера рассмотрено Марвелом и Хорнингом [134].

Полимеризация α-аминокислот или их эфиров. Первая известная попытка соединить α-аминокислоты пептидной связью описана Колером [135] в 1865 г. Проведенный им опыт заключался в термической самоконденсации глицина в токе хлористого водорода, в результате чего образовался продукт реакции, состоящий в основном из 2,5-дикетопиперазина. Аналогичная попытка конденсации α-аминокислот была предпринята примерно через шесть лет Шалем [94], который нагревал аспарагиновую кислоту, а также аспарагин в атмосфере углекислого газа. В результате им была получена смесь, состоявшая, как позднее установил Гримо [95], главным образом из двух полимерных продуктов неопределенного химического состава, дававших положительную биуретовую реакцию. Подобного же рода полимеризация аспарагиновой кислоты была осуществлена в 1897 г. Шиффом [98] путем нагревания свободной кислоты при 190—200° и последующей обработки остатка кипящей водой. По-видимому, ему удалось среди других продуктов, находящихся в реакционной смеси, идентифицировать тетра- и октааспарагиновые кислоты. Аналогичная обработка DL-аспарагиновой кислоты, проведенная в 1953 г. Ковачом, Кёнивсом и Пуштаи [136], привела к выделению водорастворимой полиаспарагиновой кислоты, содержавшей около 71 аминокислотного остатка; исследователи высказали предположение, что эти остатки соединены между собой пептидными связями через β-карбоксильные группы. Однако в реакциях такого рода нельзя исключить возможность участия в создании пептидной связи той или другой или обеих (α и β) карбоксильных групп. На этом основании вполне возможно образование смесей полимеров, содержащих остатки, соединенные как через α-, так и через β-карбоксильные группы аспарагиновой кислоты.

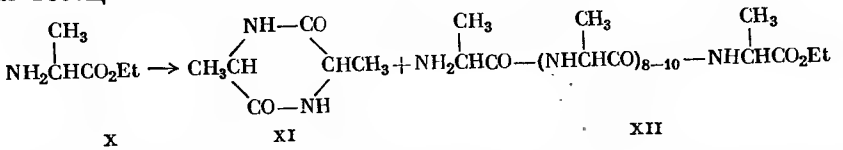
Способность эфиров α-аминокислот аналогичным образом превращаться в соответствующие полимеры, а также в дикетопиперазины впервые отмечена Курциусом [96] в 1883 г. Курциус наблюдал, что влажный этиловый эфир глицина (VII) спонтанно превращается в 2,5-дикетопиперазин (VIII) и в вещество, позднее охарактеризованное [97] как производное тетрапептида, представляющее собой этиловый эфир триглицилглицина (IX). Это соединение, названное «биуретовым основанием» потому, что оно дает отчетливую красно-фиолетовую биуретовую реакцию, только через несколько недель осаждалось из раствора этилового эфира глицина в сухом эфире. Приблизительно через 17 лет Бальбиано и Трасциатти



[101] провели аналогичную полимеризацию глицина, нагревая его в растворе глицерина; Майар [137] предполагал, что эта реакция протекает через промежуточное образование глицериновых эфиров аминокислоты. Тот факт, что главным продуктом такой конденсации является 2,5-дикетопиперазин, был установлен Майаром [137], а также Мейером и Го [138]. Первый из них, кроме того, показал, что в полученной смеси полимеров наряду с роговидным нерастворимым в воде полимером содержится тетрамер и гексамер глицина. Сходство образующегося нерастворимого полимера с эфирами полиглицина следует из работ Френкеля и Качальского [105, 106], а также Баниэля, Френкеля, Фридриха и Качальского [139], которые повторили ранние исследования, проведенные Курциусом с метиловым и этиловым эфирами глицина и распространили этот метод на изобутиловый, октиловый, додециловый, гексадециловый, октадециловый, β-нафтиловый и холестериновый эфиры глицина. В случае эфиров с низшими алкильными группами, помимо продуктов, полученных ранее Курциусом [96, 97], из реакционной смеси был выделен целый ряд полиглициновых эфиров с цепями различной длины (10—35 остатков глицина). С другой стороны, оказалось, что полимеризация сложных эфиров высших спиртов протекает без сопутствующего образования дикетопиперазинов.

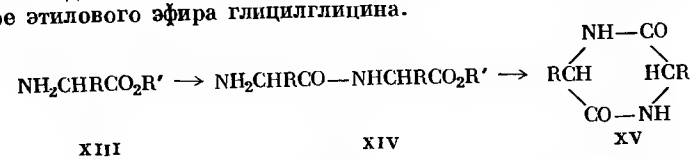
За исключением глицина и некоторых его производных, полимеризация аминокислот протекает, по-видимому, с рядом осложнений; например, было опубликовано несколько неудачных попыток полимеризации свободных α-аминокислот при их нагревании в растворе глицерина [101, 140]. Хотя синтез полимера (XII; 10—16 остатков) из этилового эфира аланина (X) был успешно осуществлен Френкелем и Качальским [107], эта поликон-

денсация завершилась лишь после нагревания X в вакууме при 25—80° в течение нескольких недель; реакция сопровождалась образованием ангидрида аланина (XI). Аналогичная обработка целого ряда эфиров других аминокислот привела к образованию соответствующих 2,5-дикетопиперазинов — единственных продуктов, которые удавалось выделить, если реакция вообще имела место.

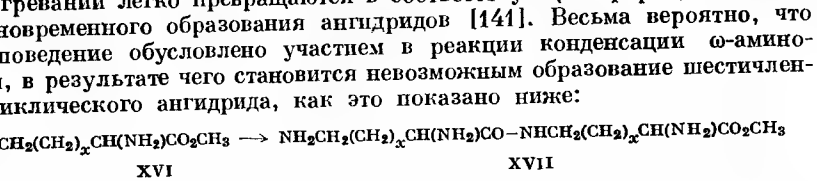


По-видимому, такого рода реакции протекают путем предварительной конденсации двух молекул эфира аминокислоты XIII с последующей внутримолекулярной циклизацией промежуточно образующегося эфира дипептида XIV. Данные об аналогичных превращениях различных эфиров аминокислот сведены Качальским [112] в приведенную здесь табл. 54.

Необходимо отметить легкость внутримолекулярной конденсации эфиров дипептидов, наблюдавшуюся уже ранее Фишером и Форно [103] на примере этилового эфира глицилглицина.



В отличие от описанных выше эфиров α-аминокислот эфиры ω-аминокислот, например α, β-диаминопропионовой кислоты, изосерина или лизина, при нагревании легко превращаются в соответствующие эфиры дипептидов без одновременного образования ангидридов [141]. Весьма вероятно, что такое поведение обусловлено участием в реакции конденсации ω-аминогруппы, в результате чего становится невозможным образование шестичленного циклического ангидрида, как это показано ниже:



Так, Адамсон [149] отмечает, что вещество, полученное Фишером и Судзуки [141] при самоконденсации метилового эфира лизина и описанное ими как «ангидрид лизина», в действительности представляло собой смесь, состоящую приблизительно на 40% из летучего внутримолекулярного ангидрида лизина (3-амино-*гомо*-пиперидина) и на 60% из нелетучих пептидов лизина. Синтез истинного дикетопиперазина лизина был впоследствии осуществлен Качальским, Гросфелдом и Френкелем [150] с использованием N^{ε}-карбобензоксилизина, где реакционноспособная ε-аминогруппа остатка лизина полностью блокирована. Аналогичная ситуация имеет место и при конденсации эфиров аспарагиновой и глутаминовой кислот, что, вероятно, вызвано дополнительным участием в этих превращениях еще и ω-карбоксильных групп.

В связи с изложенным выше представляется интересным упомянуть здесь о злополучной истории с синтетическим «аргиниларгинином». Хотя это соединение, охарактеризованное пикратом и нитратом, как предполагали Фишер и Судзуки [141] (1905), образуется при самоконденсации метилового эфира L-аргинина, тем не менее это предположение было высказано

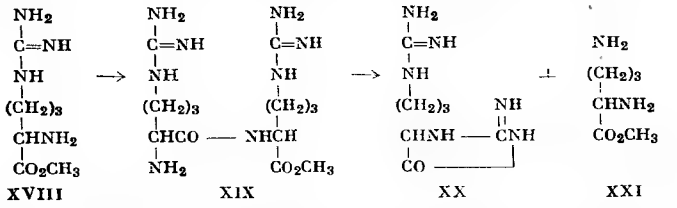
Таблица 54

Продукты поликонденсации некоторых эфиров α-аминокислот

Соединение	Продукт конденсации	Литература
Этиловый эфир DL-аланина (т. кип. 48° при 11 *мм*)	Этиловый эфир тетраалания; этиловый эфир 10—16 полиаланина; ангидрид аланина	107
Метиловый эфир L-аргинина	Ангидрид α,δ-*бис*-гуанидино-*н*-валериановой кислоты+метиловый эфир орнитина	141, 142
Диэтиловый эфир L-аспарагиновой кислоты	3,6-Дикарбэтоксиметил-2,5-дикетопиперазин (нагревание в присутствии хлористого цинка)	143
Диметиловый эфир L-аспарагиновой кислоты	3,6-Дикарбометоксиметил-2,5-дикетопиперазин (нагревание до 100°)	144
Диметиловый эфир L-цистина	Разлагается при комнатной температуре	145
Метиловый эфир глицина	Ангидрид глицина; метиловый эфир тетраглицина; метиловый эфир 18—30-полиглицина	105
Этиловый эфир глицина	Ангидрид глицина; этиловый эфир тетраглицина («биуретовое основание»); этиловый эфир 10—20-полиглицина	107
Метиловый эфир L-гистидина	Ангидрид гистидина (нагревание до 100°)	141
Этиловый эфир DL-изолейцина (т. кип. 90—92° при 15 *мм*)	Перегоняется без разложения	146
Этиловый эфир L-лейцина (т. кип. 83,5° при 12 *мм*)	» » »	147
Этиловый эфир DL-лейцина (т. кип. 83,5° при 12 *мм*)	» » »	148
Метиловый эфир DL-лизина	«Ангидрид лизина» DL-3-амино-*гомо*-пиперидон+лизилпептиды	141, 149
Метиловый эфир ε-N-карбобензокси-L-лизина	Ангидрид ε,ε′-дикарбобензоксилизина (нагревание до 100°)	150
Этиловый эфир DL-фенилаланина (т. кип. 143° при 10 *мм*)	Перегоняется без разложения	151
Метиловый эфир DL-серина	Ангидрид серина (при 35—40°)	141
Этиловый эфир L-тирозина (т. пл. 108—109°)	Ангидрид тирозина (нагревание до 180°)	151
Этиловый эфир DL-валина (т. кип. 63,5° при 8 *мм*)	Ангидрид валина (при комнатной температуре)	152

с некоторыми оговорками. Так, данные анализа на азот по методу Дюма были завышенными; кроме того, при длительной обработке указанного соединения концентрированной соляной кислотой не наблюдалось образования свободного аргинина, что вызывало сомнение относительно его пептидной природы. Несмотря на эти данные, примерно через 20 лет Эдльбахер и Бонем [153] сообщили, что «аргиниларгинин» Фишера и Судзуки полностью гид-

ролизуется 25% серной кислотой в течение 14 *час*, причем свободная аминокислота может быть выделена из гидролизата почти с количественным выходом в виде пикролоната. Они показали также, что содержание азота, определенное формольным титрованием, находится в хорошем соответствии с теоретически ожидаемым значением для этого соединения, в то время как при действии на «аргиниларгинин» аргиназы выделяется в виде мочевины лишь около 20—21% общего азота. Следовательно, основные доводы, говорившие против строения аргиниларгинина, предложенного Фишером и Судзуки, были тем самым, по-видимому, опровергнуты. Однако картина резко изменилась в 1927 г. после выхода в свет работы Косселя и Штаудта [154], которые в противоположность данным Эдльбахера и Бонема не только не наблюдали образования аргинина при длительной обработке «аргиниларгинина» горячей серной кислотой, но также установили, что пикролонат аргинина, описанный ранее Эдльбахером и Бонемом, в действительности является соответствующим производным негидролизованного «аргиниларгинина». Через год Вальдшмидт-Лейц, Шеффнер, Шлаттер и Клейн [155] показали, что вещество, полученное Фишером и Судзуки, совершенно не чувствительно к гидролитическому действию ни трипсинкиназы, ни кишечного эренсина, в результате чего вновь возникли сомнения относительно пептидной природы «аргиниларгинина». Вопрос был окончательно решен в том же году благодаря классическому исследованию Зерваса и Бергмана [142], которые однозначно доказали, что самоконденсация метилового эфира аргинина (XVIII) протекает с образованием соответствующего эфира дипептида (XIX), который затем быстро расщепляется, диспропорционируясь на метиловый эфир орнитина (XXI) и на ангидрид α,δ-дигуанидиновалериановой кислоты (XX). Последнее соединение и представляло собой вызвавший столько споров «аргиниларгинин», полученный Фишером и Судзуки.



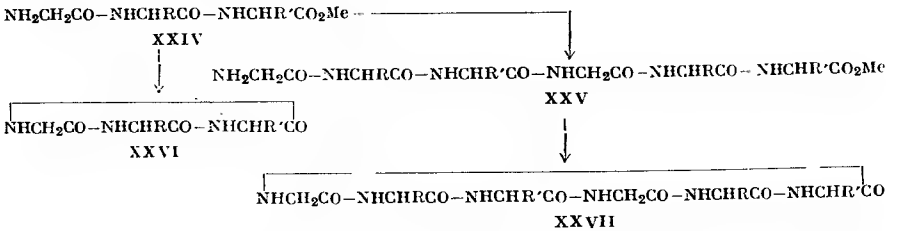
Характерно, что хотя подлинный аргиниларгинин был синтезирован только совсем недавно (раздел 39), частые ссылки на этот пептид, как на субстрат, оказавшийся чувствительным к действию аргиназы, появились в публиковавшихся исследованиях и обзорах значительно раньше.

Полимеризация эфиров высших пептидов. Эфиры высших пептидов, как и эфиры аминокислот и дипептидов, обладают способностью вступать в реакции поликонденсации, хотя такая склонность резко уменьшается с увеличением длины цепи, а сама реакция требует более жестких условий. Использование эфиров высших пептидов для полимеризации впервые описано Фишером [156] в 1906 г., получившим с хорошим выходом пентаглицилглицин нагреванием метилового эфира диглицилглицина (XXII) при 100° с последующим омылением эфира гексапептида (XXIII), выделенного из полимерной реакционной смеси. Кроме того, был выделен, но в меньшем количестве, нерастворимый

$$\underset{\text{XXII}}{NH_2CH_2CO-NHCH_2CO-NHCH_2CO_2CH_3} \xrightarrow{100^\circ} \underset{\text{XXIII}}{NH_2CH_2CO-(NHCH_2CO)_4-NHCH_2CO_2CH_3}$$

в воде продукт реакции, представлявший собой, по-видимому, эфир додекапептида. Подобным же образом ведут себя метиловые эфиры лейцилглицилглицина и аланилглицилглицина [157]. Через несколько лет Паксу и Вильсон [109, 110], исследуя метиловые эфиры глицилаланил- и лейцилглицилглицина, показали, что реакция конденсации этих эфиров, осуществленная нагреванием их при 100—110°, может протекать с образованием полимеров, содержащих в среднем до 96 аминокислотных остатков. Кроме того, эти авторы подтвердили [109] более ранние наблюдения Абдергальдена и Фодора [158], что метиловый эфир глицилглицилглицина при стоянии в метанольном растворе при комнатной температуре превращается в нерастворимый метиловый эфир гексапептида. Кинетика этой реакции при 0, 25 и 60° была изучена Рисом, Тонгом и Юнгом [159].

Брокман, Туммес и фон Мецш [160] показали, что реакции конденсации эфиров трипептидов могут протекать не только с образованием линейных полимеров. Так, из метанольного раствора метилового эфира глицилаланилфенилаланина (XXIV; $R = CH_3$; $R' = CH_2C_6H_5$), содержавшего аммиак или пиперидин, им удалось выделить циклические три- и гексапептиды. Первое соединение (XXVI) образуется, по-видимому, в результате внутримолекулярной циклизации исходного эфира трипептида (XXIV), тогда как второй циклический продукт (XXVII) получается в результате межмолекулярной конденсации двух молекул соединения XXIV с промежуточным образованием эфира гексапептида (XXV). Полученные результаты вполне согласуются с известным принципом Руггли [161], согласно которому при реакциях, обычно протекающих с образованием линейных полимерных продуктов, циклические соединения получаются лишь в том случае, если расстояние, разделяющее молекулы в растворе, больше расстояния между двумя концами данной молекулы. Поэтому разведение может настолько сильно препятствовать межмолекулярной реакции конденсации, что будет иметь место предпочтительное образование циклических продуктов.



С исторической точки зрения интересно обратить внимание на сообщение Фишера [157], в котором в противоположность более раннему утверждению Курциуса [97] отмечено, что ни метиловый, ни этиловый эфиры триглицилглицина при нагревании при 100° не проявляют никакой склонности к полимеризации. Это противоречие, по-видимому, было разрешено Слейтерманом и Венендалом [162], показавшими, что в случае метилового эфира триглицилглицина после длительного индукционного периода при 100° происходит миграция метильной группы от кислородного атома к атому азота с образованием свободного триглицилглицина и его N-метил- и N,N-диметилпроизводных. Отмечено [163], что эфиры полиглицина получаются в результате поликонденсации, протекающей при более высоких температурах. Однако позднее Брокман и Муссо [164] сообщили, что метиловый эфир триглицилглицина не претерпевает заметного изменения даже при нагревании

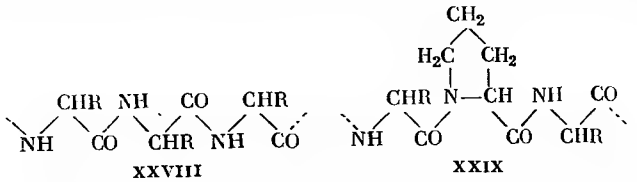
Продукты поликонденсации некоторых эфиров пептидов

Исходное соединение	Температура и время нагревания	Продукты конденсации и разложения	Литература
Этиловый эфир глицилглицина	78° (20 *час*) или комн. темп. (18 мес.)	Ангидрид глицина; метиловый эфир тетраглицина	165
Этиловый эфир диглицилглицина	135° (12 *час*)	Эфир гекса- и попаглицина; высшие полимеры (следы)	165
	105° (1 мес.)	Эфир гексаглицина; высшие полимеры (главн. продукт)	165
Метиловый эфир диглицилглицина	100°	Эфир гексаглицина; аморфная, нерастворимая в воде фракции	156
	100° (9 *суток*)	Метиловый эфир полиглицина; следы саркозина	163
	102—130° (20 *суток*)	Эфир 6—96-полиглицина	108, 109
	105° (1 мес.)	Высшие полимеры	165
	108° (20 *час*)	Эфир гекса- и попаглицина; высшие полимеры	165
Этиловый эфир триглицилглицина	100°	«Циклический ангидрид октаглицина»	97
	135° (12 *час*)	Тетраглицин	165
Метиловый эфир триглицилглицина	20° (14 *суток*)	Не полимеризуется	164
	100° (29 *суток*)	Метиловый эфир полиглицина; низшие пептиды; саркозин; N,N-диметилглицин	162
	125° (4 *час*)	Не полимеризуется	164
Метиловый эфир триглицилглицина	140° (4 *час*)	Тетраглицин (реакция прошла на 60%)	164
	160° (4 *час*)	Бурая окраска; тетраглицин	164
	180° (4 *час*)	Черное окрашивание; тетраглицин; глицин (следы)	164
	185° (25 *мин*)	Метиловый эфир полиглицина; следы саркозина	163
	205° (5 *мин*)	Черное окрашивание; отрицательная нингидриновая реакция	164
Этиловый эфир тетраглицилглицина	124° (17,5 *час*)	Пентаглицин (следы)	165
	163° (17 *час*)	Пентаглицин (реакция прошла на 4%)	165
Этиловый эфир пентаглицилглицина	124° (17 *час*)	Гексаглицин (следы); высшие полимеры (следы)	165
	163° (37 *час*)	Гексаглицин (следы); высшие полимеры (следы)	165
Метиловый эфир пентаглицилглицина	102—130° (21 *сутки*)	Метиловый эфир 96-полиглицина; эфиры низших пептидов	16
Этиловый эфир 16-полиглицина	100° (34 *суток*)	Этиловый эфир 30-полиглицина	105
Этиловый эфир 20-полиглицина	100° (34 *суток*)	Этиловый эфир 42-полиглицина	105
Метиловый эфир 30-полиглицина	130° (9 *суток*)	Метиловый эфир 110-полиглицина	105
Метиловый эфир L-аланилглицилглицина	100°	Эфир гексапептида; аморфный полимер	157
Метиловый эфир DL-аланилглицилглицина	80—110° (32 *суток*)	Метиловый эфир поли-DL-аланилглицилглицина (растворим в воде)	110
	110° (4 *суток*)	Ангидрид глицина; полимеры из 6—42 остатков	166
Этиловый эфир 13-поли-DL-аланина	150°	Этиловый эфир 23-поли-DL-аланина	107
Метиловый эфир DL-лейцилглицилглицина	100—110° (11 *суток*)	Метиловый эфир поли-DL-лейцилглицилглицина (растворим в воде)	110

при 125° в течение 4 *суток*, хотя при еще более высокой температуре было отмечено образование свободного тетрапептида и других продуктов разложения. В соответствии с этими данными Райдон и Смит [165] показали, что этиловый эфир триглицилглицина после нагревания при 135° в течение 12 *час* образует в качестве единственного продукта реакции свободный тетрапептид. Ими же установлено, что, в то время как этиловые эфиры ди- и трипептидов глицина полимеризуются довольно быстро, соответствующие эфиры тетра-, пента- и гексапептидов глицина при нагревании в течение 37 *час* при повышенной температуре или совсем не полимеризуются, или изменяются лишь в незначительной степени. Однако в более ранних работах Френкеля и Качальского [105—107] показано, что эфиры полиглицина и полиаланина, содержащие 13—30 аминокислотных остатков, способны конденсироваться при нагревании при 100—130° в течение 9—34 *суток*, причем образуют при этом полимеры, состоящие из 23—110 аминокислотных остатков. Имеются указания, что метиловые эфиры пептидов конденсируются легче, чем этиловые эфиры [105, 165].

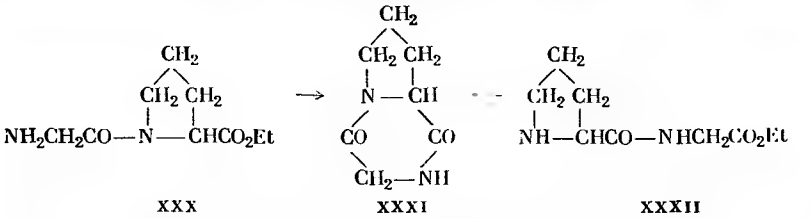
Ввиду противоречивых данных различных исследователей о термической полимеризации эфиров тетрапептидов и высших полипептидов для окончательного вывода о характере и степени полимеризации этих соединений необходимы дополнительные исследования. Продукты поликонденсации, описанные в ряде этих исследований, приведены в табл. 55.

Необычное поведение в реакциях конденсации пептидов, содержащих остатки пролина, следует рассмотреть здесь более детально. Как уже было указано Эдсаллом [167], конформация молекулы, в состав которой входят остатки пролина или оксипролина, во многом определяется относительной «жесткостью» взаимного расположения двух атомов пирролидинового кольца, соединенных с двумя соседними атомами полипептидной цепи. Следовательно, полипептиды, содержащие такие остатки (XXIX), оказываются неспособными принять полностью вытянутую конформацию, характерную для полипептидов, не содержащих пролиновые остатки (XXVIII); вследствие этого происходит искажение спиралевидных конформаций, приводящее к скручиванию пептидной цепи. Во всяком случае, было показано,



что в отличие от других дипептидов дипептиды, содержащие остаток пролина или оксипролина, проявляют в аналогичных условиях значительно бо́льшую склонность к внутримолекулярной циклизации с образованием соответствующих 2,5-дикетопиперазинов [168, 169]. Это явление, как установили Райдон и Смит [170], имеет место и в случае этиловых эфиров некоторых ди-, три- и тетрапептидов, в цепи которых находится остаток пролина. Так, например, при нагревании этилового эфира глицил-L-пролина (XXX) в течение 15 *час* при 105° и 10^{-3} *мм* или при стоянии в вакууме при комнатной температуре в течение ночи наблюдалась внутримолекулярная циклизация с образованием ангидрида глицилпролина (XXXI) без одновременной линейной полимеризации. Превращение этилового эфира пролилглицина (XXXII) в этот же ангидрид может быть осуществлено или аналогичным путем, или путем выдерживания его в растворе триэтиламина

при комнатной температуре в течение двух недель. В результате аналогичных превращений трех



возможных этиловых эфиров трипептида, построенного из одного остатка L-пролина и двух остатков глицина, были получены сложные смеси, состоявшие из ангидрида (XXXI), 2,5-дикетопиперазина и некоторого количества полимера. С другой стороны, тетрапептид — этиловый эфир пролилдиглицилглицина — не проявил заметной склонности ни к межмолекулярной, ни к внутримолекулярной реакции при нагревании в течение 20 *час* при 95° и 10^{-3} *мм*. Эти исследования были продолжены Смитом [170], который отметил, что при хранении этилового эфира глицил-DL-пролилглицина в этанольном растворе триэтиламина в течение двух лет при комнатной температуре постепенно осаждалось в небольшом количестве кристаллическое соединение, которое периодически удаляли из раствора фильтрованием; это вещество было впоследствии идентифицировано как циклический трипептид, *цикло*-глицилглицил-DL-пролил. Среди других продуктов реакции в маточном этанольном растворе были найдены глицилпролилглицин, глицин, ангидрид глицилпролина и, по-видимому, незначительное количество этилового эфира гексапептида.

Контролируемая конденсация эфиров аминокислот и пептидов. Из рассмотренного материала становится очевидным, что применение регулируемых реакций поликонденсации метиловых или этиловых эфиров аминокислот и пептидов в качестве общего метода синтеза пептидов определенного строения невозможно. Это связано не только с трудностью получения гомогенных пептидов с требуемой длиной цепи, но также и потому, что введение в пептидную цепь различных аминокислотных остатков с желаемой последовательностью фактически не поддается контролю. Первая, но безуспешная попытка использовать реакции конденсации этого типа для синтеза пептидов с известной последовательностью аминокислот была предпринята Фишером [171]. Его эксперимент заключался в термической конденсации этилового эфира карбэтоксиглицилглицина (XXXIII) с этиловым эфиром DL-лейцина (XXXIV; $R = C_4H_9$), приводящей к этиловому эфиру карбэтоксиглицилглицил-DL-лейцина (XXXV; $R = C_4H_9$).

$$\underset{\text{XXXIII}}{C_2H_5OCO—NHCH_2CO—NHCH_2CO_2Et} + \underset{\text{XXXIV}}{NH_2CHRCO_2Et} \longrightarrow$$

$$\longrightarrow \underset{\text{XXXV}}{C_2H_5OCO—NHCH_2CO—NHCH_2CO—NHCHRCO_2Et}$$

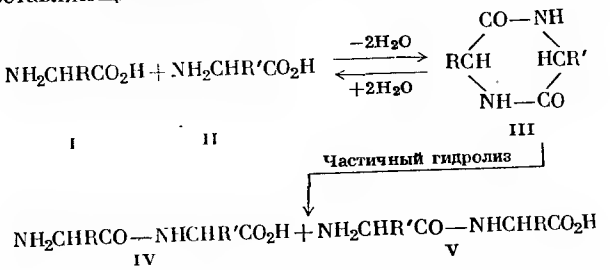
Однако от этого метода вскоре пришлось отказаться из-за очень низких выходов получаемых продуктов реакции и осложнений, связанных с дальнейшим удлинением пептидной цепи аналогичным путем.

Тем не менее можно привести ряд отдельных примеров, где контролируемая конденсация метиловых или этиловых эфиров аминокислот была успешно использована для синтеза пептидов определенного строения. Так,

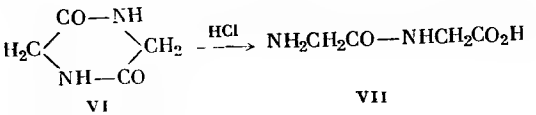
можно указать на получение эфира гексаглицина конденсацией двух молекул метилового эфира триглицина при нагревании без растворителя [156, 165] или в метанольном растворе [109, 158], а также на классический синтез Курциуса [97], который конденсацией этилового эфира глицина в абсолютном эфире получил эфир тетраглицина.

Оценка метода. Хотя синтез низших пептидов с заданной последовательностью путем конденсации эфиров аминокислот (за исключением редких случаев) не приводит к положительному результату, этот метод с большим успехом был использован для получения полимеров аминокислот различной степени полимеризации. Однако синтез таким путем высших полипептидов обычно требует применения высоких температур, причем условия реакции являются настолько жесткими, что вызывают заметное разложение исходных веществ и конечных продуктов. При использовании оптически активных реагентов не исключена также опасность рацемизации. Кроме того, реакционная способность метиловых и этиловых эфиров, используемых в качестве мономеров, обычно зависит от природы боковой цепи аминокислотного компонента, а также от длины цепи исходного соединения; эти обстоятельства обусловливают строение, а также величину образующихся полимерных продуктов. С появлением современных методов полимеризации, лишенных указанных ограничений, например N-карбоксиангидридного метода (раздел 10), метод конденсации эфиров постепенно утратил свое значение.

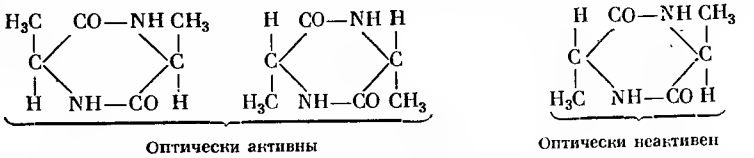
5. Дикетопиперазиновый метод. *Принцип.* 2,5-Дикетопиперазины (III) можно рассматривать как продукты сочетания двух аминокислот (I и II), соединенных друг с другом пептидными связями, образовавшимися в результате отщепления двух молекул воды. Полный кислотный или щелочной гидролиз этих соединений должен, как правило, протекать с образованием двух составляющих аминокислот (I и II). С другой стороны, следует



ожидать, что частичный гидролиз дикетопиперазинов приведет к образованию смеси двух дипептидов (IV и V) в соотношении, которое будет определяться относительной скоростью расщепления амидных связей соединения III. Если бы удалось подобрать подходящие условия для такого рода избирательного гидролиза, то этим самым был бы найден общий метод синтеза дипептидов. Этот метод был впервые удачно использован Фишером и Форно [103], синтезировавшими глицилглицин (VII) с помощью частичного гидролиза 2,5-дикетопиперазина (VI).

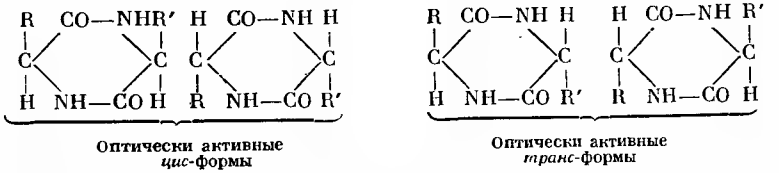


Дикетопиперазины, состоящие из остатков аминокислот одинакового химического строения, но не обязательно одинаковой оптической конфигурации, называют *симметричными* или *гомогенными*. Благодаря такому строению эти дикетопиперазины могут, как правило, существовать в трех стереоизомерных формах, т. е. в двух оптически активных *цис*-формах и одной неактивной *транс*-форме. Это показано на примере стереоизомерных форм ангидрида аланина, где первые два соединения состоят из аминокислотных



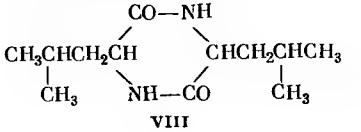
остатков одинаковой конфигурации, а в последнем содержатся остатки L- и D-конфигурации. Контролируемый кислотный или щелочной гидролиз любого из двух оптически активных дикетопиперазинов при отсутствии рацемизации может привести к образованию оптически активного дипептида. Однако при аналогичной обработке внутренне компенсированной неактивной формы образуется рацемат, состоящий из L-аланил-D-аланина и его антипода, D-аланил-L-аланина.

Асимметричные, или *смешанные* дикетопиперазины в отличие от рассмотренных выше содержат остатки аминокислот различного химического строения. Если каждый из остатков, входящих в состав дикетопиперазина, содержит только один асимметрический центр, то теоретически возможно существование четырех оптически активных стереоизомеров, которые изображены ниже:

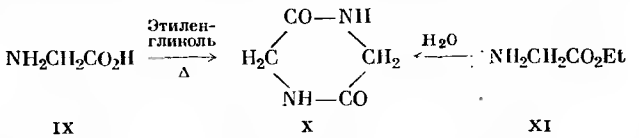


В этом случае каждой паре *цис*- и *транс*-форм соответственно отвечают рацемические модификации. Парциальный гидролиз любой из данных оптически активных форм при отсутствии предпочтительного расщепления какой-нибудь определенной амидной связи должен привести к образованию двух дипептидов (IV и V), различающихся между собой последовательностью аминокислотных остатков.

Получение 2,5-дикетопиперазинов. «Лейцинимид», или ангидрид лейцина (VIII), описанный Боппом [172] в 1849 г., является самым первым из известных представителей этого класса соединений. Тот же дикетопиперазин был получен Хессе и Лимприхтом



[173] в 1860 г. нагреванием лейцина в токе углекислоты, а также Колером [135] в 1865 г. нагреванием соответствующей аминокислоты в токе хлористого водорода. В сущности, те же методы были использованы позднее для синтеза ангидридов аланина [174], фенилаланина [175], саркозина [176] и фенилглицина [177]. Уже совсем недавно простой прием нагревания свободного глицина (IX) в этиленгликоле при 174—176° привел к удобному синтезу ангидрида глицина (X) с выходом около 62% [178, 179].



Типичная методика. 1. Ангидрид глицина (X) [179]. Смесь 700 *г* технического глицина и 3500 *мл* технического этиленгликоля нагревают при постоянном перемешивании в 5-литровой круглодонной колбе в течение 50 *мин* при 174—176°. Реакционную массу охлаждают в течение 20 *час* в холодильнике, после чего суспензию центрифугируют и коричневый кристаллический осадок промывают на воронке Бюхнера абсолютным метанолом (500 *мл*) до тех пор, пока фильтрат не будет почти бесцветным. Полученный 2,5-дикетопиперазин, окрашенный в коричневый цвет (около 320 *г*), растворяют в 2,2 *л* кипящей воды и раствор оставляют на ночь в рефрижераторе. Суспензию фильтруют, светло-коричневые кристаллы промывают абсолютным метанолом (500 *мл*) и сушат на воздухе. Затем дикетопиперазин (около 250 *г*) растворяют в 2,5 *л* кипящей воды и раствор после обесцвечивания 20 *г* активированного угля фильтруют через воронку Бюхнера, обогреваемую паром. Если фильтрат имеет желтый цвет, то обесцвечивание проводят повторно с 5 *г* угля. Бесцветный фильтрат охлаждают в течение ночи в холодильнике, суспензию фильтруют и кристаллы промывают 100 *мл* ледяной воды, 80 *мл* 50%-ного метанола и 80 *мл* абсолютного метанола. После высушивания на воздухе выход чистого белого 2,5-дикетопиперазина составляет 210 *г* (40%). Из объединенных фильтратов можно выделить еще 22% этого вещества.

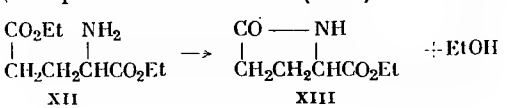
За исключением описанного случая, синтез 2,5-дикетопиперазинов непосредственно из свободных аминокислот обычно протекает неудовлетворительно. Курциус и Гёбель [180] сообщили в 1888 г. о другом пути, основанном на сравнительно большей реакционной способности эфиров аминокислот. Этот метод был впервые применен для получения ангидрида глицина (X) из водного раствора этилового эфира глицина (XI) при комнатной температуре. Как позднее показали Абдергальден и Судзуки [181], скорость превращения эфира аминокислоты в соответствующий ангидрид существенно зависит от степени пространственного экранирования, обусловленного радикалом аминоэфира, причем эта скорость понижается при возрастании величины радикала (табл. 56). Уменьшение скорости образования ангидрида по мере увеличения размера алифатической боковой цепи аминокислотного остатка наблюдалось Фишером и Судзуки [141, 151]. Так, хотя превращение этиловых эфиров аланина, аминомасляной кислоты, лейцина, α-амино-*н*-капроновой кислоты, фенилаланина или тирозина в соответствующие дикетопиперазины не имело места в водном растворе, тем не менее эти реакции легко осуществлялись в запаянной трубке при 150—180°. Симметричные дикетопиперазины гистидина [141], серина [141], пролина [182], β-этилового эфира аспарагиновой кислоты [143] и других аминокислот были также получены из эфиров соответствующих аминокислот. Однако этот метод оказался непригодным в случае глутаминовой кислоты из-за внутримолекулярной циклизации диэтилового эфира глутаминовой кислоты (XII) в этиловый эфир α-пирролидонкарбоновой кислоты (XIII).

Таблица 56

Скорость превращения различных эфиров глицина в 2,5-дикетопиперазины при хранении [181]

Эфир	Продолжительность хранения, *сутки*		Образование дикетопиперазина, %
	при 37°	при 18°	
Метиловый эфир глицина [а])	2	—	99,4
	—	2	88,8
Этиловый эфир глицина	2,7	—	54,2
	5,7	—	92,2
		5,7	54,5
н-Пропиловый эфир глицина	2,7	—	39,2
	5,7	—	96,5
		6	47,2
Изопропиловый эфир глицина	5,7	—	18,1
	14	—	71,6
	—	14	14,8
н-Бутиловый эфир глицина	2,7	—	41,5
	6	—	92,8
	—	8	50,5
Изобутиловый эфир глицина	2,7	—	41,5
	5,7	—	97,2
	—	7,7	45,7
н-Амиловый эфир глицина	2,7	—	63,1
	6	—	100,8
	—	6	64,4
Изоамиловый эфир глицина	2,7	—	49,0
	6	—	87,8
	—	6	59,0
Бензиловый эфир глицина	3	—	20,2
	10	—	36,0
	—	10	22,8

[а]) Превращение в 2,5-дикетопиперазин в основном закончилось за 2 *час* при 37°

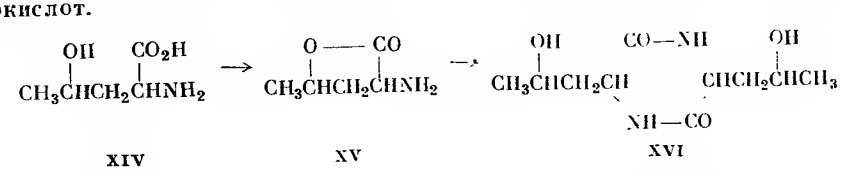


Безводные эфиры аминокислот способны самопроизвольно превращаться в соответствующие дикетопиперазины, а поэтому хранить эти эфиры продолжительное время в виде свободных оснований не рекомендуется.

Относительная легкость, с которой некоторые эфиры, такие, как метиловый эфир L-серина, превращаются при хранении в ангидриды, отчетливо показана в приведенной ниже методике.

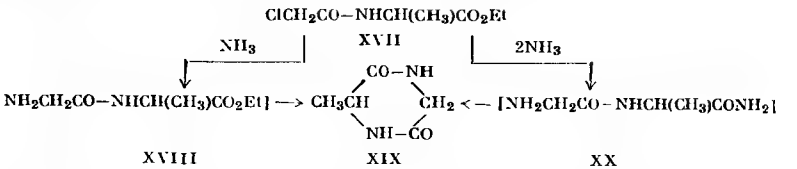
Типичная методика 2. Ангидрид L-серина [183]. Суспензию 2 *г* тонкоизмельченного L-серина в 60 *мл* сухого метанола быстро насыщают сухим хлористым водородом до полного растворения аминокислоты. Прозрачный раствор концентрируют в вакууме при температуре не выше 40°, к кристаллическому остатку приливают 30 *мл* сухого метанола и смесь снова насыщают хлористым водородом. После упаривания смеси досуха неочищенный продукт реакции растворяют при комнатной температуре в минимальном количестве сухого метанола; при осторожном добавлении сухого эфира выпадает хлоргидрат метилового эфира L-серина в виде блестящих белых кристаллов. Выход 82%; т. пл. 163—167° (с разложением). Один грамм полученного хлоргидрата аминоэфира переводят в свободное основание путем растворения в 10 *мл* сухого метанола и нейтрализации вычисленным количеством (7,3 *мл*) 2%-ного раствора метилата натрия в сухом метаноле. Для удаления хлористого натрия добавляют 20 *мл* сухого эфира, смесь охлаждают в ледяной бане в течение 15 *мин* и затем осадок отфильтровывают. Фильтрат упаривают в вакууме досуха и получают метиловый эфир L-серина в виде бесцветного масла. Это соединение после стояния при комнатной температуре в течение 12—15 *час* превращается в кристаллический ангидрид L-серина. Выход последнего, после промывания кристаллов небольшим количеством этанола, составляет около 66%. Для перекристаллизации полученный ангидрид растворяют в десятикратном количестве горячей воды и затем к раствору добавляют двукратный объем этанола; т. пл. 247° (с разложением), $[\alpha]_D^{25} = -67{,}5°$ (2,2% в воде).

В 1902 г. Фишер и Лёйкс [184] обратили внимание на то, что лактоны некоторых оксиаминокислот обладают заметной склонностью к образованию дикетопиперазинов. Так, было показано, что α-амино-γ-валеролактон (XV), полученный действием этанольного раствора хлористого водорода на α-амино-γ-оксивалериановую кислоту (XIV), при стоянии при комнатной температуре легко превращается в дикетопиперазин (XVI). По-видимому, этот процесс протекает путем предварительной полимеризации двух молекул лактона оксиаминокислоты (XV) с образованием неустойчивого промежуточного лактона дипептида и его последующей циклизации. Весьма вероятно, что аналогичное явление имеет место и в случае других γ-оксиаминокислот.



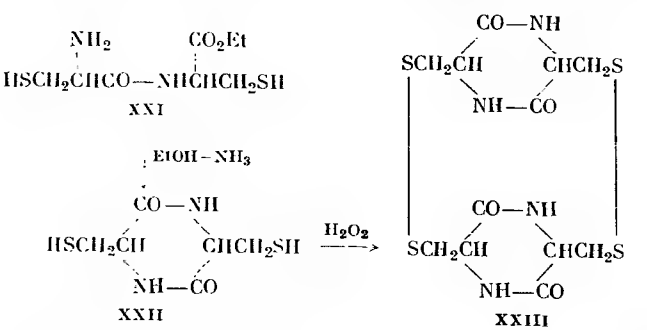
Все ранее упомянутые методы приводят к образованию только симметричных дикетопиперазинов, а поэтому можно было предполагать, что эфиры дипептидов или α-галогенациламинокислот смогут служить исходными соединениями для синтеза смешанных дикетопиперазинов. Первый дикетопиперазин такого типа (XIX), описанный Фишером и Отто [121] в 1903 г., был

получен действием спиртового раствора аммиака на этиловый эфир хлорацетилаланина (XVII).



Веским доводом для предположения, что эфир XVII сначала превращается в неустойчивый эфир дипептида XVIII или в неустойчивый амид XX, является относительная легкость, с которой такие соединения, как этиловый эфир глицилглицина [103], этиловый эфир лейцилаланина [157], метиловый эфир глицилвалина [185], амид глицилглицина [186] и амид глицилфенилаланина [186], превращаются в соответствующие дикетопиперазины при стоянии при комнатной температуре в спирте, спиртовом растворе аммиака или в водном растворе. Некоторые свободные дипептиды также проявляют заметную склонность к образованию дикетопиперазинов, но при повышенных температурах [187, 188]. Тенденция дипептидов или их производных к внутримолекулярной конденсации была использована для выделения соединений этого типа из смесей, содержавших высшие полипептиды ([1057], гл. 16).

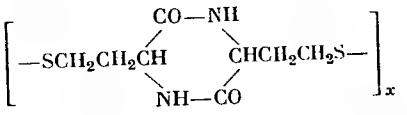
Использование легко протекающей внутримолекулярной конденсации эфиров дипептидов позволило осуществить синтез целого ряда сложных дикетопиперазинов, содержащих остаток цистина в сочетании с остатками глутаминовой или аспарагиновой кислоты, а также с остатком тирозина [189]. Особый интерес представляет собой получение *бис*-ангидридо-L-цистинил-L-цистина (XXIII), трициклического соединения, образующегося при циклизации этилового эфира L-цистеинил-L-цистеина (XXI) в этанольном растворе аммиака при 0° и последующем окислении промежуточного кристаллического дитиолпиперазина (XXII) в водном растворе. Строение молекулы



XXIII представляет некоторый интерес в теоретическом отношении, так как, кроме двух дикетопиперазиновых колец, в ней имеется еще 16-членное гетероциклическое кольцо. С помощью рентгеноструктурного анализа, проведенного в лаборатории Астбери [190], показано, что кристаллы этого соединения относятся к моноклинной системе, причем элементарная ячейка имеет размеры a — 11,15 Å, b — 5,9 Å; c — 12,5 Å и $\beta = 90°$; число моле-

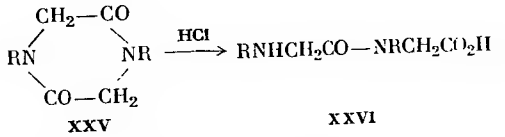
кул в элементарной ячейке равно 2. Предварительные расчеты указывают, что кольца пиперазина находятся друг от друга на расстоянии 6,25 Å и что, по-видимому, они не плоские, а имеют форму кресла. Бициклическая молекула ведет себя в оптическом отношении почти как две отдельные молекулы, расположенные одна по отношению к другой таким образом, что образующаяся структура имеет винтовую ось второго порядка.

В литературе появилось также сообщение о кристаллическом дикетопиперазине, полученном из L-гомоцистеина [191]. Однако в отличие от его L-цистеинового аналога [189] при окислении этого соединения был получен нерастворимый высокомолекулярный полимер ангидрида гомоцистина (XXIV).



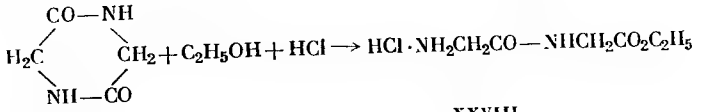
XXIV

Гидролиз 2,5-дикетопиперазинов. Первый успешный частичный гидролиз 2,5-дикетопиперазинов был осуществлен в 1888 г. Абеннусом и Видманом [192] действием соляной кислоты на симметричное 1,4-дитолильное производное (XXV, где R = $CH_3C_6H_4$). Тринадцать лет спустя аналогичное расщепление было описано Фишером и Форно [103], которые показали, что при кратковременном нагревании соответствующего незамещенного дикетопиперазина (XXV; R = H) с концентрированной соляной кислотой из быстро охлажденного раствора выпадает осадок хлоргидрата глицилглицина.



XXV XXVI

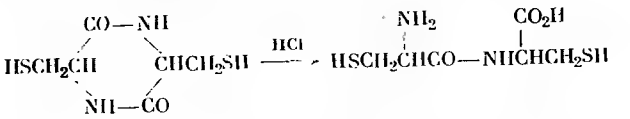
Превращением этого хлоргидрата в свободный дипептид (XXVI; R = H) при действии щелочи или окиси серебра был успешно завершен исходя из дикетопиперазина синтез первого пептида определенного строения. Аналогичная обработка ангидрида глицина (XXVII) спиртовым раствором HCl привела к образованию хлоргидрата этилового эфира глицилглицина (XXVIII). Получение глицилглицина и хлоргидрата его этилового эфира, исходя из ангидрида глицина, подробно описано ниже (методика 3).



XXVII XXVIII

Только благодаря применению сравнительно более жестких условий реакции Фишеру [171] удалось через год распространить рассмотренный метод на 3,6-диалкилзамещенные дикетопиперазины. Например, для превращения ангидрида лейцина в соответствующий дипептид необходимо нагревание его с концентрированной бромистоводородной кислотой в течение полу-

часа, в то время как аналогичное расщепление ангидрида аланина путем его продолжительного нагревания с водной или спиртовой HCl приводит к образованию сильно загрязненных продуктов реакции. С другой стороны, ангидриды гистидина и тирозина, по-видимому, очень устойчивы к гидролитическому действию кислот. Однако, как это ни странно, симметричное дикетопиперазиновое кольцо ангидрида L-цистеина [193] расщепляется холодной концентрированной соляной кислотой до оптически активного дипептида (XXX) с такой легкостью, которую можно сравнить только с легкостью гидролиза ангидрида глицина [103].



XXIX XXX

Такое поведение, по-видимому, обусловлено сильным лабилизующим влиянием, которое оказывают на дикетопиперазиновое кольцо меркаптановые группы. В связи с этим интересно отметить, что *бис*-ангидроцистинилцистин (XXIII) проявляет значительную устойчивость к действию концентрированной соляной кислоты и при длительном кипячении превращается только в цистин.

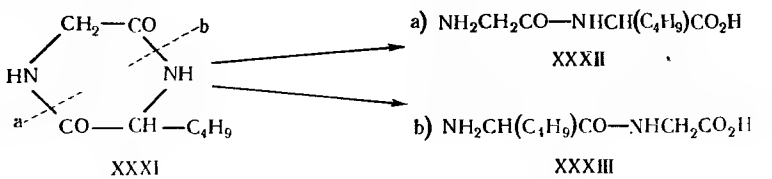
Трудности, с которыми встретился Фишер при гидролизе некоторых дикетопиперазинов, побудили его в 1905 г. использовать для этой цели однонормальный раствор щелочи [194]. В этих условиях и ангидрид глицина [194], и ангидрид аланина [195] легко превращались при комнатной температуре в соответствующие дипептиды — первый за 15—20 *мин*, а второй за несколько часов. С другой стороны, для проведения аналогичной реакции в случае ангидридов гистидина [141] и α-амино-*н*-масляной кислоты [196] потребовалось около 1—3 *суток*, в то время как ангидрид лейцина даже в этих условиях проявлял заметную устойчивость к гидролизу [194]. Легкость щелочного гидролиза, как и в случае гидролиза сильной кислотой, несомненно, определяется природой аминокислоты, участвующей в образовании дикетопиперазинового кольца, причем аминокислотные остатки с более длинной углеводородной цепью образуют более устойчивые кольца [141]. Хотя с повышением температуры скорость гидролиза возрастает, избирательная способность снижается и поэтому в этих условиях процесс гидролиза обычно сопровождается нежелательным расщеплением образующихся дипептидов до свободных аминокислот.

Несмотря на то что в большинстве случаев дикетопиперазины легче расщепляются растворами щелочей, чем растворами кислот, использование щелочного гидролиза часто лимитируется значительной рацемизацией, часто наблюдаемой у дипептидов, выделенных при частичном щелочном гидролизе оптически активных дикетопиперазинов. Впервые это явление было отмечено на примере аланилаланина [195], полученного щелочным гидролизом ангидрида L-аланина, а впоследствии было показано, что оно имеет место и в случае ангидрида L-тирозина [197]. Благодаря систематическим исследованиям Левена, Стейгера и Маркера [198] выяснилось, что рацемизация вызвана в основном действием щелочи на оптически активный дикетопиперазин, а не на образующийся дипептид. Найдено, что степень рацемизации симметричных ангидридов, состоящих из двух оптически активных аминокислот, увеличивается по мере возрастания устойчивости дикетопиперазина к щелочному гидролизу. В то время как действие 0,2 н. рас-

твора едкого натра на ангидрид L-аланина в течение 48 *час* при 25° сопровождается приблизительно 80%-ной рацемизацией, в аналогичном эксперименте с L-аланил-L-аланином даже при более продолжительном взаимодействии со щелочью не наблюдается потери оптической активности. Интересно также отметить полную и быструю рацемизацию ангидрида L-лейцина под действием щелочи в условиях, которые не ведут к расщеплению дикетопиперазинового кольца. Бергман, Зервас и Кёстер [199] ранее показали, что дикетопиперазин D-фенилаланил-L-аргинина самопроизвольно рацемизуется в водном растворе на 50% в течение 19 *мин*. Это явление, вероятно, связано со значительной основностью гуанидиновой группы.

При гидролизе смешанных дикетопиперазинов встречаются дополнительные трудности из-за возможности расщепления кольца двумя различными путями.

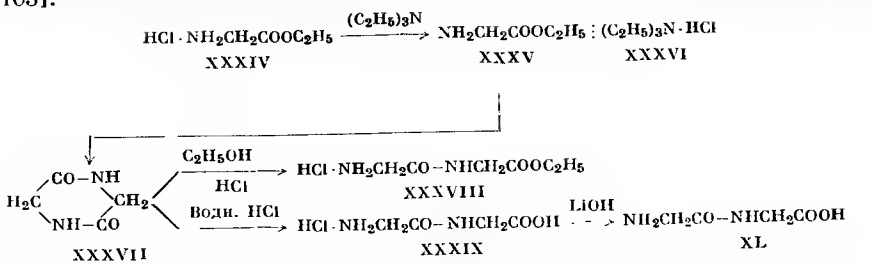
Так, было найдено, что при гидролитическом расщеплении ангидрида глициллейцина (XXXI) образуется смесь трудно разделимых дипептидов глициллейцина (XXXII) и лейцилглицина (XXXIII) [197]. Однако иногда процесс гидролиза смешанных дикетопиперазинов протекает с образованием только одного пептида. Это было показано Бергманом и Тицманом [200], которые после кислотного гидролиза ангидрида L-пролил-L-фенилаланина выделили только L-пролил-L-фенилаланин. Правда, дальнейшие исследования показали, что этот случай представляет собой скорее исключение, чем правило.



Оценка метода. Из изложенного становится очевидным, что метод получения пептидов из дикетопиперазинов, если его рассматривать как общий, имеет ряд существенных ограничений. Основным из них является возможность использования дикетопиперазинового метода исключительно для синтеза дипептидов. К числу недостатков относятся также осложнения, возникающие при гидролизе дикетопиперазинов кислотой или щелочью в стандартных условиях, а также потеря оптической активности, которая почти всегда наблюдается при проведении реакции в щелочной среде. Наконец, оба дипептида, которые могут быть получены при расщеплении смешанных дикетопиперазинов, образуются в таком соотношении, которое нельзя предусмотреть, и разделение этой смеси часто представляет собой неразрешимую проблему. Эти недостатки фактически привели к полной замене этого метода более новыми и совершенными. Тем не менее дикетопиперазиновый метод представляет интерес с исторической точки зрения как первый способ получения пептидов определенного строения.

Примеры синтеза пептидов. Хотя дикетопиперазиновый метод синтеза пептидов и был почти полностью заменен более новыми способами, он до сих пор является одним из самых целесообразных путей получения глицилглицина (XL), простейшего из всех пептидов. Это соединение, а также хлоргидрат этилового эфира глицилглицина (XXXVIII) легко получаются из

2,5-дикетопиперазина (XXXVII) по классическому методу Фишера и Форно [103]:



Приведенный ниже способ получения 2,5-дикетопиперазина по Фишеру [157] модифицирован автором.

Типичная методика 3. 2,5-Дикетопиперазин (XXXVII). В литровый стакан помещают 279 *г* хлоргидрата этилового эфира глицина (XXXIV) и затем добавляют 210 *мл* воды. Смесь охлаждают приблизительно до 0—5° и при перемешивании добавляют 279 *мл* охлажденного льдом триэтиламина с такой скоростью, чтобы температура держалась ниже 5°. После прибавления триэтиламина раствор оставляют при комнатной температуре на 36—48 *час*, затем выдерживают 4 *час* при 4°, после чего фильтруют. Белый кристаллический осадок промывают последовательно 300 *мл* холодной воды и 300 *мл* холодного этанола, а затем высушивают в вакууме; выход 56—62 *г* (49—54%). Полученное соединение может быть очищено перекристаллизацией из горячей воды.

Хлоргидрат глицилглицина (моногидрат) (XXXIX) [103, 179]. К 110 *мл* концентрированной горячей соляной кислоты добавляют 20,5 *г* (0,18 моля) тонкорастертого дикетопиперазина и полученную смесь быстро нагревают до кипения. После 90—100 *сек* кипячения смесь быстро охлаждают ледяной водой и спустя 1 *час* кристаллическую массу отфильтровывают через кислотоустойчивую бумагу или через пористый фильтр и высушивают при 50°. Выход хлоргидрата глицилглицина (моногидрата) составляет около 30 *г* (89%). Продукт может быть очищен перекристаллизацией из водного спирта.

Глицилглицин (XL). Двадцать пять граммов хлоргидрата (XXXIX) растворяют в минимальном количестве теплой воды и нейтрализуют до pH 6,0, добавляя по каплям концентрированный раствор гидроокиси лития. Если необходимо, смесь нагревают до полного растворения осадка. Затем к раствору добавляют десятикратный объем абсолютного спирта и смесь оставляют на ночь при 4°. Выпавший белый кристаллический осадок перекристаллизовывают из водного спирта. Полученный продукт должен давать отрицательную пробу с азотнокислым серебром. Общий выход составляет 80% теории.

Хлоргидрат этилового эфира глицилглицина (XXXVIII) [103]. Двадцать граммов тонкоизмельченного 2,5-дикетопиперазина суспендируют в 540 *мл* абсолютного спирта. Смесь охлаждают в ледяной бане и быстро насыщают хлористым водородом. Для полноты растворения реакционную массу при встряхивании быстро нагревают на паровой бане до кипения. Долго нагревать раствор не рекомендуется во избежание образования значительного количества хлоргидрата этилового эфира глицина; нерастворившееся вещество следует быстро отфильтровать на воронке для горячего фильтрования. Затем раствор охлаждают до 0° и через несколько часов кристаллическую массу хлоргидрата этилового эфира глицилглицина отфильтровывают;

кристаллы промывают сначала холодным спиртом, а затем эфиром. Выход после высушивания над натронной известью составляет около 80% теории; т. пл. 182° (с разложением). Продукт реакции кристаллизуют из горячего спирта.

6. Синтез пептидов с помощью хлорангидридов и азидов ациламинокислот. *Принцип.* Хотя описанные выше метод конденсации сложных эфиров и дикетопиперазиновый метод и применимы в ограниченных случаях для синтеза пептидов, тем не менее эти методы не представляют собой общего пути введения данной аминокислоты в любое положение пептидной цепи. В связи с этим представлялось целесообразным развить далее ранние исследования Курциуса и Фишера, посвященные синтезу пептидов на основе азидного и хлорангидридного методов. Хотя эти методы и не обеспечивали возможность получения свободных пептидов, но после некоторого усовершенствования они нашли широкое применение при введении соответствующей аминокислоты в определенное положение пептидной цепи. Эти методы заключались в превращении ацилаламинокислоты (I) в соответствующий азид (II; X = N_3) или хлорангидрид (II; X = Cl) и последующей конденсации образующихся активированных производных с аминокислотой, пептидом или их эфирами. Превращение полученного пептида (III) в хлорангидрид или азид создавало возможность дальнейшего удлинения пептидной цепи аналогичным образом.

$$\underset{\text{I}}{RCO-NHCHR'CO_2H} \longrightarrow \underset{\text{II}}{RCO-NHCHR'COX} \xrightarrow{NH_2CHR''CO-} \underset{\text{III}}{RCO-NHCHR'CO-NHCHR''CO-}$$

Азидный метод. Через год после того, как Фишер и Форно [103] описали синтез глицилглицина из дикетопиперазина, Курциус [115] предложил новый метод соединения остатков аминокислот пептидной связью. Этот метод, использованный для получения бензоильных производных ди-три- и тетраглицина, позволял ступенчато получать ацилированные пептиды, исходя из бензоилглицина (IV). Метод заключался в превращении последнего в соответствующий гидразид (VI) действием гидразина на этиловый эфир бензоилглицина (V). Обработка полученного гидразида азотистой кислотой приводила затем к образованию реакционноспособного азида (VII), который в водном растворе в обычных условиях реакции Шоттена — Баумана [201] легко конденсировался с глицином или глицилглицином.

$$\underset{\text{IV}}{C_6H_5CO-NHCH_2CO_2H} \xrightarrow[\text{Ag-соль}]{C_2H_5I} C_6H_5CO-NHCH_2CO_2Et \xrightarrow{NH_2NH_2} \underset{\text{VI}}{C_6H_5CO-NHCH_2CONHNH_2} \xrightarrow{HNO_2}$$

$$\longrightarrow \underset{\text{VII}}{C_6H_5CO-NHCH_2CON_3} \xrightarrow[H_2O,\ NaOH]{NH_2CH_2CO_2H} \underset{\text{VIII}}{C_6H_5CO-NHCH_2CO-NHCH_2CO_2H}$$

Дальнейшее удлинение пептидной цепи было осуществлено повторным проведением всех операций с полученным бензоилдипептидом (VIII). В табл. 57 приведены температуры плавления некоторых пептидов глицина, описанных Курциусом в уже упоминавшемся и в более поздних сообщениях.

Приблизительно через два года после первого сообщения Курциус [203] подробно описал проведенные им синтезы бензоилпептидов в серии из девяти статей под общим названием «Verkettung von Amidosäuren». Позднее этот метод синтеза, заключавшийся первоначально во взаимодействии азида с аминокислотой или пептидом в водно-щелочном растворе, а также с эфиром аминокислоты или пептида в хлороформном растворе, был распространен

Таблица 57

Некоторые производные бензоилглицина и его пептидов, описанные Курциусом с сотрудниками [115, 117, 202]

Соединение	Температура плавления производных, °С			
	свободная кислота	этиловый эфир	гидразид	азид
Бензоилглицин	187,5	60,5	162,5	98
Бензоилдиглицин	206,5	117	227—229	109—110
Бензоилтриглицин	215—216	173	245—250	162
Бензоилтетраглицин	235	213	—	—
Бензоилпентаглицин	246—252	—	268—269	254—255
Бензоилгексаглицин	268	258—263	—	—
Бензоилгептаглицин	274—277	—	—	—

на получение бензоилированных пептидов аланина [116, 204], аспарагиновой кислоты [118], изосерина [119], β-бутирина [119], γ-бутирина [205], фенилаланина [205] и мочевины [206]. В этом отношении особый интерес представляют синтезы пептидов аспарагиновой кислоты [118], поскольку в данном случае в образовании амидных связей принимают участие как α-, так и β-карбоксильные группы. Такой синтез, приводящий к образованию поликарбоновой кислоты (XV), может быть схематически изображен следующим образом:

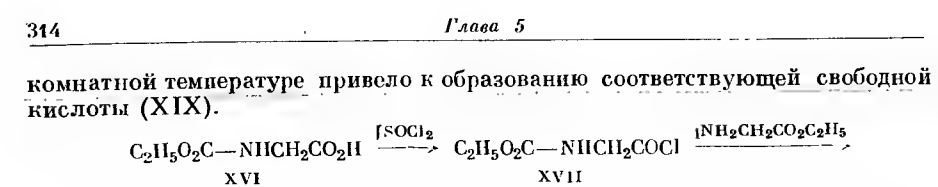
$$\underset{\text{IX}}{RN_3} + \underset{\text{X}}{\begin{matrix} NH_2CHCO_2H \\ | \\ CH_2CO_2H \end{matrix}} \xrightarrow[NaOH]{\text{Водн.}} \underset{\text{XI}}{\begin{matrix} RNHCHCO_2H \\ | \\ CH_2CO_2H \end{matrix}} \xrightarrow[\text{Ag-соль}]{C_2H_5I\ \text{на}} \underset{\text{XII}}{\begin{matrix} RNHCHCO_2Et \\ | \\ CH_2CO_2Et \end{matrix}} \xrightarrow{NH_2NH_2}$$

$$\underset{\text{XIII}}{\begin{matrix} RNHCHCONHNH_2 \\ | \\ CH_2CONHNH_2 \end{matrix}} \xrightarrow{HNO_2} \underset{\text{XIV}}{\begin{matrix} RNHCHCON_3 \\ | \\ CH_2CON_3 \end{matrix}} \xrightarrow[\text{Водн. NaOH}]{\text{Аспарагинов. кислота}} \underset{\text{XV}}{\begin{matrix} RNHCHCO-NHCH(CH_2CO_2H)_2 \\ | \\ CH_2CO-NHCH(CH_2CO_2H)_2 \end{matrix}}$$

$$R = C_6H_5CO-NHCH_2CO-$$

Хлорангидридный метод. Через год после первого сообщения Курциуса [115] о возможности создания пептидной связи с помощью азидного метода Фишер и Отто [120, 121, 207] впервые получили и успешно использовали для этой же цели хлорангидриды ацилированных аминокислот и пептидов. Примененный ими метод может быть показан на примере карбэтоксиглицина (XVI), обработка которого тионилхлоридом при 35—40° привела к аналитически не вполне чистому хлорангидриду (XVII). Конденсацией последнего с этиловым эфиром глицина в хлороформном или эфирном растворе был получен ожидаемый этиловый эфир карбэтоксиглицилглицина (XVIII). Омыление этого эфира однонормальным раствором щелочи при

комнатной температуре привело к образованию соответствующей свободной кислоты (XIX).



Этот метод был использован последователями Фишера для получения ряда различных карбэтоксипептидов; некоторые из них приведены в табл. 58.

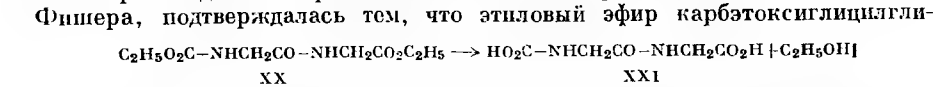
Таблица 58

Некоторые карбэтоксипроизводные, полученные Фишером с сотрудниками

Соединение	Температура плавления [a] производных, C°			Литература
	свободная кислота	этиловый эфир	амид	
Карбэтокси-DL-аланин	84	25	120—121	208
Карбэтокси-DL-аланилглицин	122	67,5	119	208
Карбэтоксиглицин	75	27—28	101—103,5	121
Карбэтоксиглицилглицин	140	87	183	103, 171
Карбэтокситриглицин	212—214	163—164	235	120
Карбэтокситетраглицин	—	235—236	275	120
Карбэтоксиглицил-DL-аланин	187,5—188,5	65,5—66,5	136,5—137,5	121

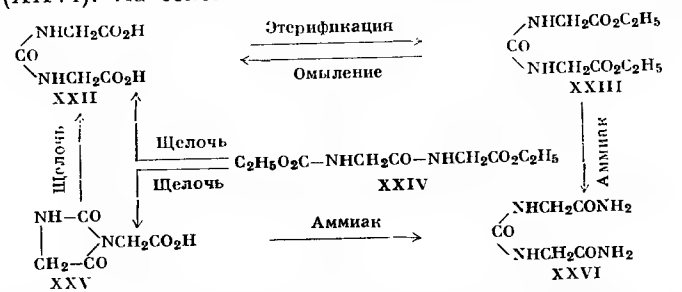
[a]) Исправленные значения.

Принимая во внимание сходство N-карбэтоксильной группы со сложноэфирной группой этиловых эфиров алифатических карбоновых кислот, Фишер [120] ошибочно предположил, что первая группа аналогично второй будет легко подвергаться омылению в присутствии щелочи, образуя N-карбоксипроизводные. Справедливость такого предположения, по мнению Фишера, подтверждалась тем, что этиловый эфир карбэтоксиглицилглицина (XX) и подобные соединения при действии щелочи в течение нескольких часов при 80° превращались в вещества, элементарный анализ которых полностью соответствовал вычисленному для N-карбоксипептидов типа XXI. Однако попытки получить из этих соединений свободный пептид путем удаления N-карбоксильной группы в виде двуокиси углерода не увенчались успехом; это заставило Фишера в конце концов отказаться от этого метода как возможного пути получения свободных пептидов. В ходе обсуждения этого метода Фишер [209] высказал мысль, которая со всей ясностью отражала соперничество, существовавшее между ним и Курциусом: «Эти и подобные соединения уже значительно ближе к свободным полипептидам, чем бензоильные производные Курциуса, так как они содержат только одну лишнюю карбоксильную группу. Однако надежда удалить последнюю в виде двуокиси углерода, как этого следовало ожидать по аналогии с поведением



карбаминовой кислоты и подобных ей соединений, с целью получить таким путем свободные пептиды не оправдалась».

В связи с вышеизложенным интересно отметить, что около 20 лет спустя Вессели и Кемм [210] однозначно доказали, что «глицилглицинкарбаминовая кислота» Фишера в действительности представляла собой карбонил-*бис*-глицин (XXII). Они показали, что указанное соединение, полученное омылением диэтилового эфира карбонил-*бис*-глицина (XXIII) (образовавшегося в свою очередь при действии фосгена на этиловый эфир глицина), идентично продукту щелочной обработки этилового эфира карбэтоксиглицилглицина (XXIV). Карбонил-*бис*-глицин (XXII) был получен также щелочным расщеплением гидантоин-3-уксусной кислоты (XXV), тогда как под действием аммиака эта кислота (XXV) превращается в карбонил-*бис*-глицинамид (XXVI). На основании этих данных Вессели и Кемм высказали



предположение, что расщепление этилового эфира карбэтоксиглицилглицина (XXIV) щелочью протекает через неустойчивый промежуточно образующийся гидантоин (XXV). Позднее Вессели, Кемм и Майер [211] распространили эти исследования на некоторые карбометоксидипептиды.

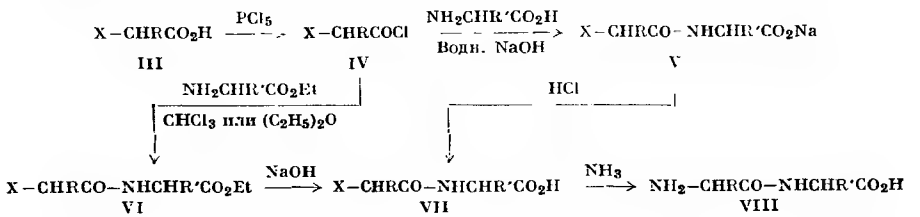
Оценка метода. В первое время азидный и хлорангидридный методы синтеза пептидов находили ограниченное применение из-за отсутствия ацильных защитных групп, удаляемых без одновременного расщепления чувствительной пептидной молекулы. После введения указанных методов прошло около 20 лет, пока применение таких подходящих защитных группировок, как толуолсульфонильная [127] и карбобензоксигруппы [128], не привело к возможности широкого использования этих методов в пептидной химии. Действительно, на протяжении весьма плодотворного периода времени, с 1932 по 1950 г., в течение которого был получен целый ряд синтетических пептидов для изучения специфичности энзимов [129—133], азидный и хлорангидридный методы использовались почти исключительно для пептидных синтезов, в которых применялись легко снимаемые ацильные защитные группировки. Однако после 1949 г. с открытием многих новых методов конденсации использование хлорангидридного метода, требующего относительно большой затраты времени и труда, стало значительно более редким. С другой стороны, азиды благодаря их некоторым преимуществам и в дальнейшем очень широко использовались в реакциях конденсации. Достоинства и недостатки различных методов конденсации будут рассмотрены более подробно ниже (разделы 26—38).

7. Метод, основанный на использовании галогенангидридов α-галогенкислот, и родственные методы. *Принцип.* Классический способ получения α-аминокислот (II) заключается в реакции между соответствующей α-хлор- (I, X = Cl) или α-бромкислотой (I; X = Br) и избытком аммиака в спир-

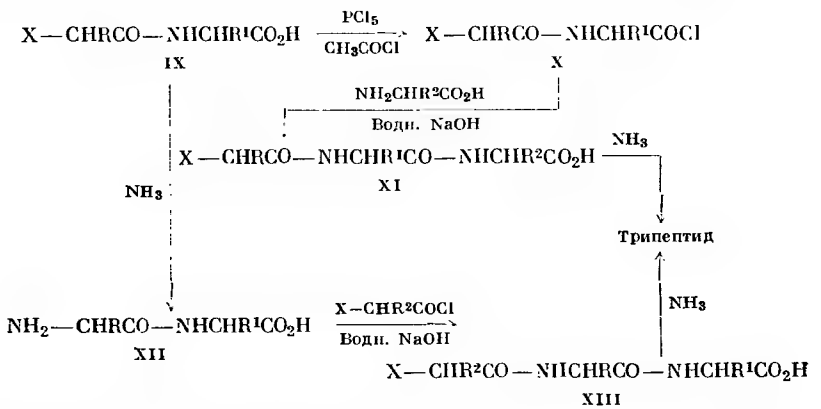
товом или водном растворе, как показано на следующей схеме (гл. 2; [1057], гл. 42):

$$\underset{\text{I}}{X-CHRCO_2H} \xrightarrow{NH_3} \underset{\text{II}}{NH_2-CHRCO_2H}$$

Ту же самую α-галогенкислоту (III) превращают в соответствующий хлорангидрид (IV), действуя на нее пятихлористым фосфором или тионилхлоридом. Затем хлорангидрид конденсируют с свободной аминокислотой или пептидом в воднощелочном растворе или с соответствующими эфирами в растворе хлороформа или эфира. α-Галогенациламинокислоту (VII) или пептид получают или нейтрализацией соли V (при конденсации в водной щелочи), или омылением эфира (VI) (если конденсация проводилась в растворе хлороформа или эфира). Последующий аммонолиз α-галогенацильного производного (VII) приводит к образованию соответствующего пептида (VIII).



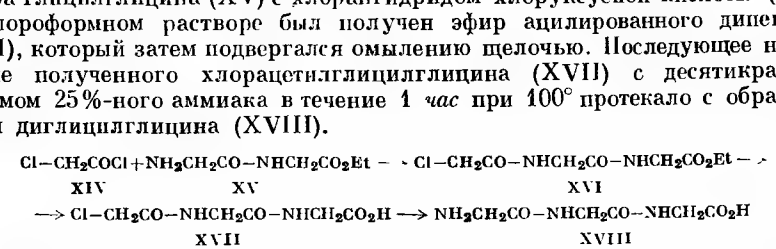
При получении высших полипептидов ранее полученную α-галогенациламинокислоту (IX) превращают в соответствующий хлорангидрид (X) действием на нее пятихлористым фосфором в растворе хлористого ацетила и дальнейшую конденсацию с другой аминокислотой, пептидом или их эфирами проводят, как описано выше. С другой стороны, дипептид (XII), полученный аминированием α-галогенациламинокислоты (IX), путем взаимодействия с галогенангидридом α-галогенкислоты в щелочном растворе может быть превращен в соответствующее α-галогенацильное производное (XIII). Аммонолиз соединений XI и XIII приводит к образованию соответствующих высших пептидов.



Использование этой схемы синтеза создает возможность ступенчатого построения пептидной цепи присоединением остатков как к N-концевой

группе аминокислоты или пептида, так и к карбоксильной группе соответствующих α-галогенацильных производных.

Развитие α-галогенацильного метода. Приведенная выше схема синтеза, разработанная в результате исследований Эмиля Фишера и его школы, легла в основу синтеза большинства пептидов, изученных в течение первых трех десятилетий нашего столетия. Эти исследования, безусловно, можно рассматривать как самое выдающееся из многочисленных достижений Фишера в области химии белков. Разработка этого метода в качестве общего пути синтеза пептидов была необходима из-за неудач, встретившихся при использовании ранее упомянутого карбэтоксильного метода (раздел 6). Указанный метод в том виде, в котором он был первоначально предложен Фишером и Отто [121], предусматривал применение α-галогенацильного заместителя в качестве предшественника N-концевой аминокислоты пептидной цепи, а не самой α-аминокислоты. Так, при взаимодействии этилового эфира глицилглицина (XV) с хлорангидридом хлоруксусной кислоты (XIV) в хлороформном растворе был получен эфир ацилированного дипептида (XVI), который затем подвергался омылению щелочью. Последующее нагревание полученного хлорацетилглицилглицина (XVII) с десятикратным объемом 25%-ного аммиака в течение 1 *час* при 100° протекало с образованием диглицилглицина (XVIII).



Вскоре после этого Фишер [212], развивая свои исследования, применил вместо хлорацетилхлорида (XIV) α-бромпропионилбромид и α-бромизокапроилхлорид, в результате чего были получены соответственно DL-аланилглицилглицин и DL-лейцилглицилглицин. Различные галогензамещенные галогенангидриды кислот, которые Фишер использовал для синтеза α-галогенациламинокислот, а также соответствующие N-концевые аминокислотные остатки, в которые затем превращали α-галогенацильный заместитель действием аммиака, приведены ниже:

Бромацетилбромид	Глицил-
Хлорацетилхлорид	Глицил-
α-Бромпропионилбромид (или хлорид)	Аланил-
α-Бромбутирилхлорид	α-Аминобутирил-
α-Бромизовалерилхлорид	Валил-
α-Бромизокапроилхлорид	Лейцил-
α-Бром-β-фенилпропионилхлорид	Фенилаланил-
α,δ-Дибромвалерилхлорид	Пролил-

Этим методом Фишером с сотрудниками было синтезировано исключительно большое число пептидов определенного строения; многие из этих пептидов перечислены в табл. 59.

По-видимому, наиболее ярким примером сочетания α-галогенацильного метода с описанным ранее методом конденсации эфиров (раздел 4) и дикетопиперазиновым методом (раздел 5) является интересный синтез октадекапептида, L-лейцилтриглицил-L-лейцилтриглицил-L-лейцилоктаглицилглицина (XXI), осуществленный Фишером [230] в 1907 г. Так, при гидролизе ангидрида глицина был получен глицилглицин (дикетопиперазиновый метод), который конденсацией в щелочном растворе с хлорангидридом

Таблица 59

Пептиды, полученные Фишером с сотрудниками путем аммонолиза промежуточных α-галогенкислот

Промежуточное α-галогенацильное производное		Продукт аммонолиза (пептид)[a]			
соединение	т. пл. (испр.)	$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	литература
Хлорацетил-		**Глицил-**			
DL-ala-OH	125—127	—	—	—	213
L-ala-OH	93,5—94,5	—50	20	8,7%, H_2O	214
L-ala-gly-OH	178	—64,3	20	4,4%, H_2O	215
L-ala-gly-L-tyr-OH	206—207	+4,0	20	10%, H_2O	215
L-ala-L-tyr-OH	236	—4,8	20	4,3%, H_2O	216
DL-Аминостеариновая кислота	103—107	—	—	—	217
L-(asp-NH_2)-OH	148—149	—6,4	20	7%, H_2O	143
L-asp-OH	142—143	+11,1	20	10%, H_2O	218
L-(asp-NH_2)-L-leu-OH	167	—46,8	20	4,8%, H_2O	144
DL-(asp-gly)-gly-OH	142—143	—	—	—	218
L-Цистин (моно)	185—190	—	—	—	219
3,5-Дииодо-L-tyr-OH	218—221	+51,2	20	4%, 25%-ный NH_4OH	220
L-glu-OH	143	—6,3	20	10%, H_2O	221
DL-glu-OH	120—123	—	—	—	221
L-(glu-gly)-gly-OH	173	<+1	20	10%, 20%-ная HCl	221
gly-gly-OH	178—180	—	—	—	213, 121
gly-gly-gly-OH	224	—	—	—	213
gly-gly-gly-gly-OH	256	—	—	—	213
gly-DL-phe-OH	151—152	—	—	—	222
DL-leu-OH	142	—	—	—	187
L-leu-OH	136	—35,1	20	4,2%, H_2O	223
DL-phe-OH	130—131	—	—	—	222
L-phe-OH	123—126	+42,0	20	1,8%, H_2O	224
DL-ser-OH	122—123	—	—	—	225
L-try-OH	159	+21,6	20	10%, 1 н. HCl	226
L-tyr-OH	155—156	—	—	—	213
L-tyr-gly-OH	188—190	0	20	2,5%, H_2O	227
L-val-OH-	113—115	—19,7	20	10%, H_2O	185
L-Цистин (ди)	134,5—136,5	—	—	—	228
DL-α-Бромпропионил-		**DL-Аланил-**			
gly-OH	104	—	—	—	187
gly-gly-OH	166—167	—	—	—	212
gly-gly-gly-OH	180	—	—	—	215
DL-leu-OH (A)	147—150	—	—	—	187
DL-leu-OH (B)	113—118	—	—	—	187

Продолжение табл. 59

Промежуточное α-галогенацильное производное		Продукт аммонолиза (пептид)[a]			
соединение	т. пл. (испр.)	$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	литература
D-α-Бромпропионил-		**L-Аланил-**			
L-ala-OH	175	—	—	—	214
D-ala-OH	170	+68,7	20	8%, H_2O	196
gly-OH	122—123	+50,3	18	10%, H_2O	215
gly-gly-OH	172	—31,4	20	10%, H_2O	215
gly-gly-gly-OH	189,5	+27,0	20	3,2%, H_2O	215
3,5-Дииодо-L-tyr-OH	217,3	+62,9	20	8%, 25%-ный NH_4OH	216
gly-L-tyr-OH	157	+41,9	20	4,5%, H_2O	229
L-leu-OH	50—51	—17,2	20	8,8%, H_2O	230
L-try-OH	65—72	+18,7	20	6,2%, H_2O	226
L-tyr-OH	165,2	—43,1	20	2%, H_2O	216
L-val-OH	180	—5,9	20	10%, H_2O	185
L-α-Бромпропионил-		**D-Аланил-**			
L-ala-OH	165	—68,5	20	8,7%, H_2O	196
DL-α-Бромизокапроил-		**DL-Лейцил-**			
DL-ala-gly-OH (A)	157	—	—	—	187
DL-ala-gly-OH (B)	Масло	—	—	—	187
gly-OH	135	—	—	—	187
gly-gly-OH	144—145	—	—	—	212
$(gly)_2$-gly-OH	168	—	—	—	194
$(gly)_3$-gly-OH	218	—	—	—	156
$(gly)_4$-gly-OH	237	—	—	—	156
$(gly)_5$-gly-OH	250	—	—	—	156
$(gly)_6$-gly-OH	256—259	—	—	—	157
$(gly)_8$-gly-OH	288	—	—	—	157
$(gly)_{10}$-gly-OH	293	—	—	—	157
D-α-Бромизокапроил-		**L-Лейцил-**			
L-ala-OH	101—103	+23,5	20	4,8%, CH_3OH	157
L-(asp-NH_2)-OH	146—148	+17,8	20	5,4%, H_2O	144
L-asp-OH	150	+27,1	18	6,2%, H_2O	218
L-Цистин (моно)	194	—	—	—	219
gly-OH	85—86	+86,0	20	8,6%, H_2O	157
L-glu-OH	108—109	+10,5	20	8,2%, 1н. HCl	229
gly-L-ala-OH	118	+20,3	20	10%, H_2O	223
gly-L-asp-OH	119—120	+55,3	20	5,2%, H_2O	218
$(gly)_2$-gly-OH	168—169	+45,9	20	9,6%, H_2O	157
$(gly)_6$-gly-OH	>246	+6,3	20	6%, H_2O+1 экв. NaOH	230
$(gly)_8$-gly-OH	300	—	—	—	230

Продолжение табл. 59

Промежуточное α-галогенацильное производное		Продукт аммонолиза (пептид) [a]			
соединение	т. пл. (испр.)	$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	литература
$(gly)_3$-L-leu-OH	182	+21,3	20	2,5%, H_2O	223
$(gly)_3$-L-leu-$(gly)_8$-gly-OH	305	—	—	—	230
$(gly)_3$-L-leu-$(gly)_3$-L-L-leu-$(gly)_8$-gly-OH	310	—	—	—	230
gly-L-try-OH	90—98	+32,3	20	8,1%, 1 н.HCl	226
$(gly)_3$-L-tyr-OH	220	+36,5	20	5%, H_2O	229
L-his-OH	118	+32,1	18	5%. H_2O	231
D-leu-OH	128	+53,0	20	10%, 0,5н.NaOH	232
L-leu-OH	149	—13,4	20	4,3%. 1н. NaOH	157
L-try-OH	118	+4,5	20	7,2%, 1 н. HCl	226
L-tyr-OH	Масло	+10,4	20	2% H_2O	216
L-val-OH	150—151	+18,0	20	10,4%, H_2O	185
Ди-D-α-Бромизокапроил-		Ди-L-Лейцил-			
L-Цистин	121—123	—136,6	20	2,5%, 1 н. HCl	226
L-α-Бромизокапроил-		D-Лейцил-			
L-(asp-NH_2)-OH	178	—53,8	20	5%, H_2O	143, 144
D-leu-OH	149	+13,2	20	9%, 1 н. NaOH	232
L-leu-OH	128	—68,0	20	9,4%, 1 н. HCl	232
DL-α-Бромбутирил-		DL-α-Аминобутирил-			
DL-Бутирин (A)	133	—	—	—	187
DL-Бутирин (B)	95	—	—	—	187
gly-OH	101—105	—	—	—	187
DL-Фенилбромацетил-		DL-Фенилглицил-			
DL-ala-OH (A)	170—171	—	—	—	187
DL-ala-OH (B)	148—151	—	—	—	187
gly-OH	106—109	—	—	—	187
DL-α-Бром-β-фенилпропионил		DL-Фенилаланил-			
gly-gly-OH	157—158	—	—	—	233
DL-leu-OH (A)	166,5	—	—	—	234
DL-leu-OH (B)	148	—	—	—	234

Продолжение табл. 59

Промежуточное α-галогенацильное производное		Продукт аммонолиза (пептид) [a]			
соединение	т. пл. (испр.)	$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	литература
D-α-Бром-β-фенилпропионил-		L-Фенилаланил-			
gly-OH	145—146	+54,2	20	2,4%, H_2O	224
DL-α-Бромизовалерил-		DL-Валил-			
DL-ala-OH (A)	165—168	—	—	—	235
DL-ala-OH (B)	129—132	—	—	—	235
gly-OH	139—141	—	—	—	235
D-α-Бромизовалерил-		L-Валил-			
gly-OH	119—120	+93,6	20	10,3%, H_2O	185, 236
L-α-Бромизовалерил-		D-Валил			
L-val-OH	163—165	—74,0	20	10%, H_2O	185

[a] Во всех случаях аммонолиз не затрагивал пептидной части α-галогенацильного производного, указанного в первой графе. Исключения (например, аммонолиз α-бромизокапроилпролина) подробно рассмотрены в тексте.

В таблице указаны только индивидуальные диастереомерные формы (т. е. A и B).

хлоруксусной кислоты (α-галогенацильный метод) и обработкой продукта конденсации аммиаком был превращен в трипептид, диглицилглицин. Конденсация эфира трипептида при 100° (метод конденсации эфиров) с последующим омылением эфира гексапептида, выделенного из смеси полимеров, привела к образованию гексапептида, пентаглицилглицина. Далее, хлорангидрид α-бромизокапроновой кислоты конденсировался с диглицилглицином, в результате чего был получен α-бромизокапроилдиглицилглицин. Хлорангидрид последнего конденсировался с гексапептидом глицина в щелочном растворе с образованием продукта конденсации, который в свою очередь действием жидкого аммиака был превращен в лейцилоктаглицилглицин (XIX).

$$NH_2—CH(C_4H_9)CO—(NHCH_2CO)_8—NHCH_2CO_2H$$

XIX

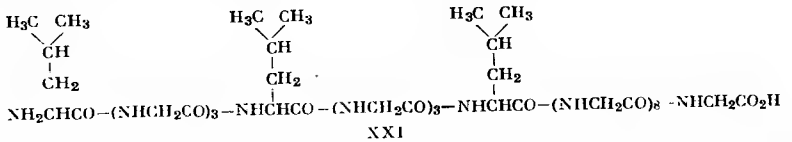
Аналогичным образом этот декапептид был введен в конденсацию с α-бромизокапроилдиглицилглицином, а продукт реакции после аммонолиза превращен в тетрадекапептид, лейцилтриглициллейцилоктаглицилгли-

цин (XX).

$$NH_2—CH(C_4H_9)CO—(NHCH_2CO)_3—NHCH(C_4H_9)CO—(NHCH_2CO)_8—NHCH_2CO_2H$$

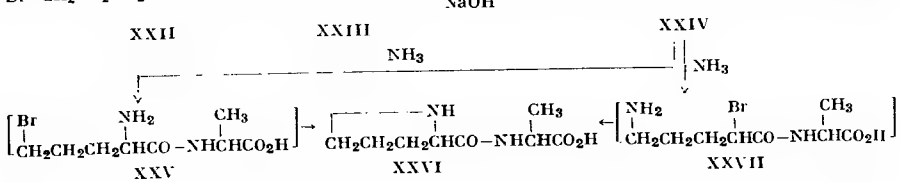
XX

Дальнейшее повторение этих реакций при взаимодействии (XX) с α-бромизокапроилдиглицилглицином привело, наконец, к желаемому октадекапептиду (XXI). Полученный 18-членный



полипептид напоминал белок в том отношении, что давал положительную биуретовую реакцию и легко высаливался из раствора. Примерно через 10 лет после этого выдающегося достижения Абдергальден и Фодор [158] использовали эти же обычные пути для синтеза нонадекапептида, самого длинного синтетического полипептида, полученного до настоящего времени*.

Синтез пептидов пролина из соответствующих α,δ-дибромвалерилпроизводных заслуживает особого рассмотрения. При аммонолизе этих дибромидов не образуется соответствующих производных орнитина, так как взаимодействие с аммиаком протекает, вопреки ожиданию, с аминированием только одного атома галогена и последующей внутримолекулярной циклизацией с образованием пирролидинового кольца. Эта реакция может рассматриваться аналогичной получению пролина путем аммонолиза промежуточно образовавшейся α, δ-дигалоген-, α-амино-δ-галоген- или α-галоген-δ-аминовалериановой кислоты ([1057], гл. 35), осуществленному Вильштеттером [237], Фишером [238] и позднее другими исследователями. Более специальное применение этой реакции для синтеза пролилаланина (XXVI) через промежуточные соединения XXV и XXVII показано ниже [239].



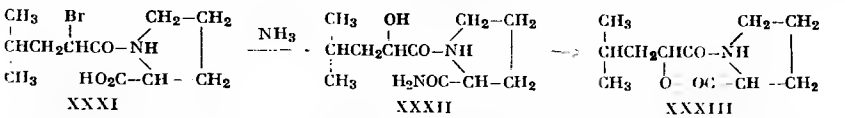
В сущности, тот же метод был использован затем для получения некоторых пептидов пролина [168, 240—242].

Аммонолиз α-галогенациламинокислот не всегда приводит к образованию соответствующего пептида, что отчетливо показано в работе Фишера и Рейфа [64] по получению лейцилпролина действием аммиака на α-бромизокапроилпролин (XXXI). Хотя в более ранней работе [243] предполагалось, что при такой реакции образуется соответствующий дипептид, при более тщательном исследовании продукта реакции (XXVIII) было обнаружено, что при температуре плавления последний легко теряет половину своего азота в виде аммиака (XXIX), что не характерно для ранее изученных пептидов.

$$\underset{XXVIII}{C_{11}H_{20}O_3N_2} \longrightarrow \underset{XXIX}{NH_3} + \underset{XXX}{C_{11}H_{17}O_3N}$$

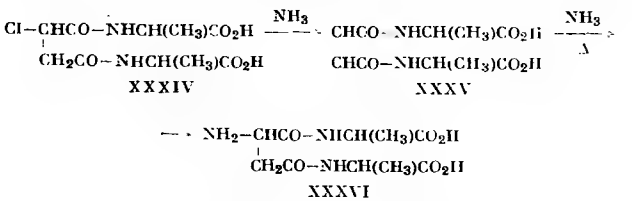
* См. предисловие.

Дальнейшее исследование показало, что продукт разложения (XXX) представлял собой лактон α-оксиизокапроилпролина (XXXIII), который мог бы быть также получен путем последовательного взаимодействия соединения XXVIII сначала со щелочью, а затем с разбавленной кислотой. Эти наблюдения показали, что соединение XXVIII обладает строением амида α-оксиизокапроилпролина (XXXII). Рассмотренные реакции представлены ниже:

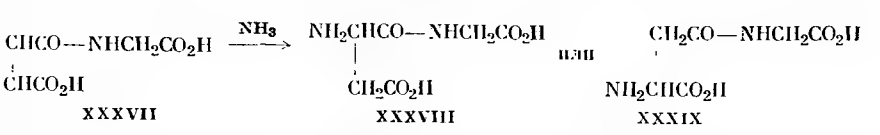


Позднее аналогичная реакция наблюдалась при обработке α-бромизокапроил-N-фенилглицина аммиаком [244].

В качестве другого примера, когда не удалось выделить продукт аммонолиза, можно привести аминирование α-галогенсукциниламинокислот. При взаимодействии этих соединений с аммиаком отщеплялся галогеноводород с одновременным образованием соответствующих производных фумаровой кислоты. Таким путем, например, из хлорсукцинилдиаланина (XXXIV) был получен фумарилдиаланин (XXXV). Однако, поскольку производные фумаровой кислоты легко присоединяют аммиак по месту двойной связи, нагревание соединения XXXV с концентрированным водным раствором аммиака приводит далее к образованию соответствующего аспартилпептида (XXXVI) [143]. Эта реакция оказалась



применимой к фумароилмоноглицину (XXXVII) и давала при этом соответствующее производное аспарагиновой кислоты (XXXVIII или XXXIX), однако вопрос о том, находится ли остаток глицина в α- или в β-положении, оставался невыясненным. Недавно Лившиц и Цилька [245] исследовали строение этого соединения и установили его идентичность β-DL-аспартилглицину (XXXIX). Как и в случае α-галогенсукциниламинокислот, аммонолиз α-бром-β-фенилпропионилглицина (XL)



протекает в значительной степени с отщеплением галогеноводорода и образованием циннамоилглицина (XLI) наряду с соответствующим дипептидом (XLII) [234].

$$\underset{XL}{C_6H_5CH_2CH(Br)CO—NHCH_2CO_2H} \longrightarrow$$

$$\longrightarrow \underset{XLI}{C_6H_5CH=CHCO—NHCH_2CO_2H} + \underset{XLII}{C_6H_5CH_2CH(NH_2)CO—NHCH_2CO_2H}$$

α-Азидоацильный метод. В качестве другого метода, предусматривающего использование аммиака для замещения атома галогена на аминогруппу, заслуживает краткого упоминания метод, основанный на восстановлении промежуточных α-азидоацильных производных. По этому методу, предложенному Берто и Майером [246], сначала замещают α-галогенный атом азидной группой, что достигается действием азида натрия на эфир галогензамещенного пептида (XLIII). Превращение промежуточного азидоацильного производного (XLIV) в соответствующее аминопроизводное (XLV) осуществляют путем каталитического восстановления азидной группы. Последующее омыление полученного эфира пептида (XLV) приводит к свободному пептиду (XLVI).

$$\underset{\text{XLIII}}{Br{-}CHRCO{-}NHCHR'CO_2Et} \xrightarrow{NaN_3} \underset{\text{XLIV}}{N_3{-}CHRCO{-}NHCHR'CO_2Et} \xrightarrow{H_2}$$

$$\rightarrow \underset{\text{XLV}}{NH_2{-}CHRCO{-}NHCHR'CO_2Et} \xrightarrow{NaOH} \underset{\text{XLVI}}{NH_2{-}CHRCO{-}NHCHR'CO_2H}$$

Требующееся промежуточное α-азидоацильное производное (L) может быть также получено и взаимодействием галогенангидрида α-азидокислоты (XLIX) с аминокислотой в щелочной среде, как показано на следующей схеме, предложенной Фрейденбергом, Эйхелем и Лейтертом [247]. Этот метод оказался полезным в тех случаях, когда действие водного раствора аммиака

$$\underset{\text{XLVII}}{Cl{-}CHRCO_2H} \xrightarrow{NaN_3} \underset{\text{XLVIII}}{N_3{-}CHRCO_2H} \rightarrow \underset{\text{XLIX}}{N_3{-}CHRCOCl} \xrightarrow[\text{Водн. NaOH}]{NH_2CHR'CO_2H}$$

$$\rightarrow \underset{\text{L}}{N_3{-}CHRCO{-}NHCHR'CO_2H} \xrightarrow{\text{Восстановление}} \underset{\text{LI}}{NH_2{-}CHRCO{-}NHCHR'CO_2H}$$

на молекулу галогенпроизводного не приводит к образованию свободного пептида. Однако ограниченность выбора доступных α-галогензамещенных производных как предшественников соответствующих α-азидопроизводных не позволяет рассматривать этот метод как общий метод синтеза пептидов.

Стереоизомерия. При синтезе оптически активных пептидов с N-концевым остатком глицина, например глицил-L-тирозина, Фишер не сталкивался со стереохимическими проблемами, поскольку в данном случае α-галогенацетильный заместитель продукта конденсации, полученного взаимодействием хлорацетилхлорида с оптически активной аминокислотой, после аминирования превращается в оптически неактивный остаток глицина. Подробное описание синтеза глицил-L-серина по этому методу дано в методике 4. Однако гораздо более сложным является получение пептидов определенной пространственной конфигурации из промежуточных соединений, в которых α-галогенсодержащий заместитель имеет асимметрический центр в α-положении, как, например, в случае остатка α-бромпропионовой или α-бромизокапроновой кислот. Так, галогенирование жирной кислоты с замещением одного из α-водородных атомов приводит к образованию рацемического соединения, разделение которого на оптические изомеры весьма затруднительно. Поскольку α-галогенацильный заместитель промежуточных α-галогенациламинокислот образовывался из рацемических соединений, то после аммонолиза получались пептиды, которые представляли собой смесь диастереомеров, так как в качестве N-концевого остатка образуется DL-α-аминокислота. Изучение этого вопроса Фишер начал с исследования

реакции введения рацемического α-галогенацильного остатка в оптически активную аминокислоту. Разделение эпимерных продуктов конденсации и последующий аммонолиз каждой из полученных таким путем оптически активных α-галогенациламинокислот привели к образованию соответствующих оптически активных пептидов. Этим путем получены L- и D-лейцил-L-аспарагин [144]. Однако при использовании этого метода встречалось много трудностей, так как растворимости большинства диастереоизомеров обычно очень близки, что не позволяет легко осуществить их разделение. Поэтому степень оптической однородности многих ранее полученных пептидов, описанных Фишером, например лейцил-L-тирозина [243], вызывает ряд сомнений.

Отсутствие удобных способов выделения оптически чистых пептидов из смеси эпимеров привело к поискам других методов. В случае наиболее удачного из этих методов исходными соединениями служили оптически активные галогензамещенные кислоты, получаемые действием нитрозилгалогенида на оптически активную аминокислоту. Вскоре после того как на этой основе стали доступными оптически активные формы природных аминокислот, Фишер [157], неожиданно, к своему огорчению, обнаружил, что N-концевой аминокислотный остаток пептида, полученный из остатка соответствующих оптически деятельных α-галогензамещенных кислот, обладает конфигурацией, противоположной конфигурации исходной аминокислоты (раздел 23 в гл. 4). Таким образом, благодаря вальденовскому обращению, имеющему место на одной из стадий этого процесса, могут получаться пептиды, N-концевыми остатками которых являются остатки антиподов природных аминокислот. Однако такое состояние вопроса едва ли можно было считать удовлетворительным, что побудило Фишера получить антиподы этих природных форм путем разделения рацемических аминокислот (гл. 3).

Рассмотренный выше путь превращений может быть показан на примере получения L-аланил-L-валина (LVI) [185]. Начальной стадией этого процесса является взаимодействие неприродного D-аланина (LII) с бромистым нитрозилом с образованием D-α-бромпропионовой кислоты (LIII). Последующее превращение оптически активной α-галогенкислоты в соответствующий хлорангидрид (LIV) и его дальнейшая конденсация с L-валином привели к образованию D-α-бромпропионил-L-валина (LV). Аммонолиз этого соединения протекает с вальденовским обращением, в результате чего образующийся пептид (LVI) содержит N-концевой аминокислотный остаток, конфигурация которого противоположна конфигурации α-галогенацильного заместителя исходного соединения. Последовательность реакций для данного конкретного случая приведена на схеме:

$$\underset{\substack{\text{D-Аланин}\\ \text{LII}}}{NH_2CH(CH_3)CO_2H} \xrightarrow{NOBr} \underset{\substack{\text{D-Бромпропионовая кислота}\\ \text{LIII}}}{BrCH(CH_3)CO_2H} \xrightarrow{PCl_5} \underset{\substack{\text{D-Бромпропионилхлорид}\\ \text{LIV}}}{BrCH(CH_3)COCl}$$

$$\xrightarrow[\text{L-Валин, щелочной раствор}]{} \underset{\substack{\text{D-Бромпропионил-L-валин}\\ \text{LV}}}{BrCH(CH_3)CO{-}NHCH(C_3H_7)CO_2H} \xrightarrow{NH_3} \underset{\substack{\text{L-Аланил-L-валин}\\ \text{LVI}}}{NH_2CH(CH_3)CO{-}NHCH(C_3H_7)CO_2H}$$

В связи с этим интересно отметить предположение Фишера [157, 208] о том, что конечная стадия аминирования протекает с сохранением конфигурации, в то время как обращение конфигурации, по-видимому, происходит во время обработки исходной аминокислоты бромистым нитрозилом. Фрейденберг и Меркерт [248] указали позже на ошибочность этого предположения,

доказав, что превращение L-аланина в соответствующую α-бромпропионовую кислоту протекает с сохранением конфигурации; этот вывод был затем подтвержден изучением кинетики этой реакции [249] (раздел 26 в гл. 4). Однако, происходит ли обращение на начальной или конечной стадии синтеза, это не меняет того, что для синтеза пептидов L-ряда в большинстве случаев требуются α-галогенкислоты, получаемые из D-аминокислот. В табл. 59 (стр. 318) приведены правильные обозначения конфигурации большинства синтезированных Фишером и его сотрудниками оптически активных α-галогенациламинокислот, а также полученных из них пептидов.

Конденсация галогенангидридов рацемических α-галогенкислот с рацемическими аминокислотами или пептидами связана с гораздо большими осложнениями, чем конденсация оптически активных реагентов, поскольку в первом случае образуется смесь рацематов диастереоизомеров; общее число стереоизомеров такой смеси равно 2^n, где n означает число асимметрических центров. Так, α-галогенациламинокислоты, содержащие два центра асимметрии, могут существовать в виде четырех стереоизомеров или двух рацемических диастереомерных пар, а именно L-D, D-L-рацемата и L-L-, D-D-рацемата, как показано на примере α-бромизовалерилвалинов:

D-α-Бромизовалерил-D-валин	D-α-Бромизовалерил-L-валин
L-α-Бромизовалерил-L-валин	L-α-Бромизовалерил-D-валин
Рацемат А	Рацемат В

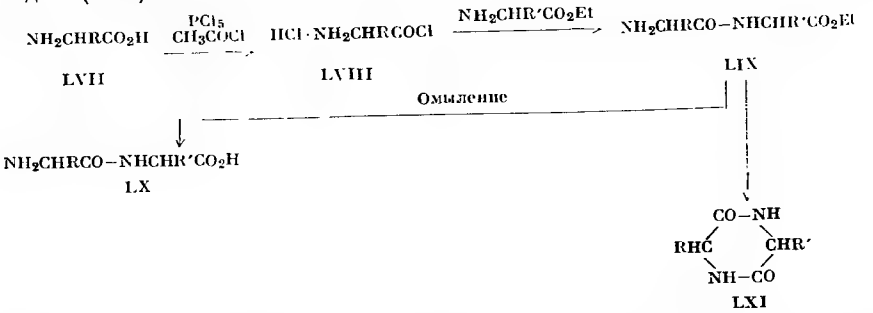
Пептиды, образующиеся путем аминирования соответствующих промежуточных α-галогенпроизводных вследствие вальденовского обращения, имеют следующее строение:

L-Валил-D-Валин	L-Валил-L-Валин
D-Валил-L-Валин	D-Валил-D-Валин
Рацемат А	Рацемат В

Иногда разделение стереоизомеров может быть достигнуто благодаря различной растворимости полученных таким образом рацемических диастереомерных пептидов или промежуточных α-галогенацилпроизводных. Такой метод был успешно применен Фишером и его сотрудниками при разделении рацемических лейцилфенилаланинов [222], аланиллейцинов [187], лейцилизосеринов [187], валилаланинов [235] и других пептидов (см. табл. 59, стр. 318). Фишер обозначал индивидуальные рацематы каждой смеси диастереоизомеров А- или В-формами в зависимости от их относительной растворимости. Однако следует отметить, что во многих случаях разница в растворимости была слишком мала и не позволяла проводить такое разделение. При этом возникают дополнительные трудности, поскольку даже при успешном разделении стереохимическая идентификация каждой пары диастереоизомеров оказывается затруднительной из-за отсутствия других данных, хотя такая идентификация в принципе возможна путем трудоемкого полного синтеза пептида с использованием оптически активных исходных веществ и гарантированных методов; использование такого способа безусловно не является целесообразным. В связи с этим следует отметить, что Хинман, Карон и Кристенсен [250] идентифицировали рацемическую L-D-, D-L-форму бензоилвалилвалина путем предварительного синтеза L-D- и D-L-изомеров.

Метод, основанный на использовании галогенангидридов α-аминокислот. В поисках методов, позволяющих получать оптически активные пептиды, Фишер [194] исследовал возможность применения в качестве ацилирующих

средств хлоргидратов хлорангидридов аминокислот (LVIII). Эти соединения, которые осаждались в кристаллической форме при встряхивании свободной аминокислоты (LVII) с пятихлористым фосфором в растворе ацетилхлорида в течение нескольких часов при комнатной температуре, легко реагировали с эфирами аминокислот в эфирном или хлороформном растворе, образуя эфиры соответствующих пептидов (LIX). Омыление последних приводило к получению свободных пептидов (LX). Хотя очевидно, что этот метод является более прямым, чем α-галогенацильный, поскольку в данном случае отпадает необходимость в стадии аминирования, тем не менее он обладает существенным недостатком, заключающимся в образовании значительных количеств дикетопиперазина (LXI) в случае синтеза эфиров дипептидов (LIX).



Указанный метод был впоследствии распространен на хлоргидраты хлорангидридов пептидов. Однако из-за значительной рацемизации, которой может сопровождаться превращение аминокислоты в ее хлорангидрид, надежды Фишера на этот метод как на общий путь к оптически активным пептидам до сих пор не смогли оправдаться. Так, например, анализом L-аланина, регенерированного путем разложения соответствующего хлоргидрата хлорангидрида в воде, было показано, что он содержит около 30% рацемического соединения [251]. Это обстоятельство, а также неудовлетво-

Таблица 60

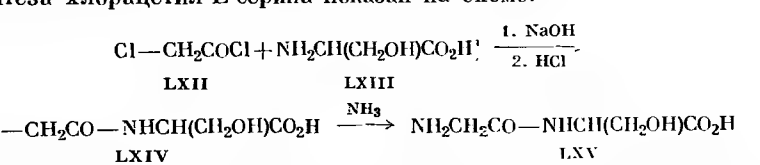
Пептиды, полученные из хлоргидратов хлорангидридов аминокислот и пептидов

Аминокислоты и пептиды в виде хлоргидрата хлорангидрида	Полученный пептид: соединение	$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	литература
L-Аланин	L-Аланилглицин	+50,2	20	10%, H_2O	251
	L-Аланил-L-аланин	−21,6	20	5%, H_2O	156
DL-Лейцилглицин	DL-Лейцилдиглицин	—	—	—	251
DL-Лейцилдиглицин	DL-Лейцилтриглицин	—	—	—	251
DL-Фенилаланин	DL-Фенилаланилглицин	—	—	—	251
L-Пролин	L-Пролил-L-фенилаланин	−40,9	20	5%, 20% HCl	252
	L-Пролил-D-фенилаланин	−52,0	20	4%, H_2O	252
L-Триптофан	L-Триптофилглицин	+78,7	20	4,4%, H_2O	226

рительные выходы, получаемые по этому методу, существенно ограничивают его использование в качестве общего метода синтеза пептидов. Большинство пептидов, синтезированных Фишером и его сотрудниками с помощью указанного метода, приведены в табл. 60.

Оценка метода. Большое значение α-галогенацильного метода для осуществления ранних синтезов многих пептидов, получение которых было недоступно другими способами, едва ли вызывает сомнение. Однако из-за серьезных недостатков, присущих этому методу, он постепенно вышел из употребления. Главным из его недостатков является применимость исключительно к простым моноаминокислотам, и даже октадекапептид, полученный Фишером, можно рассматривать как удлиненный дипептид с одной аминогруппой и одной карбоксильной группой. α-Галогенацильный метод не может быть использован для введения в пептиды гексоновых оснований и в своем настоящем виде неприменим для введения сложных аминокислот, содержащих реакционноспособные группы, имеющиеся в белках. С другой стороны, взаимодействие галогензамещенного пептида с избытком аммиака приводит в некоторых случаях не к замещению атома галогена на аминогруппу, а к гидролизу (например, α-бромизокапроилпролин превращается в амид α-оксиизокапроилпролина) или к отщеплению галогеноводорода (например, α-хлорсукцинилдиаланин превращается в фумарилдиаланин). Даже в тех случаях, когда аминирование имеет место, не исключена возможность, что выход пептида часто снижается из-за протекания указанных побочных реакций. Кроме того, окончательная очистка пептида часто оказывается затруднительной из-за присутствия больших или малых количеств хлористого аммония. Для отделения кристаллического пептида от последних следов неорганической соли обычно требуется несколько кристаллизаций. Другим серьезным недостатком α-галогенацильного метода является трудность получения оптически активных пептидов. Несмотря на оригинальность метода, предложенного Фишером для синтеза оптически активных α-галогенацильных производных на основе использования нитрозилгалогенида, все же не исключена возможность, что при этом происходит частичная рацемизация. Последняя, по-видимому, имеет место при замещении атома галогена на аминогруппу, поскольку для некоторых пептидов это превращение осуществляется при относительно высоких температурах. Поэтому с практической точки зрения этот метод следует применять для получения оптически активных пептидов только в тех случаях, когда α-галогенацильный заместитель превращается в N-концевой остаток глицина.

Пример пептидного синтеза. Получение и аммонолиз хлорацетил-L-серина (LXIV) может служить хорошим примером использования α-галогенацильного метода. С незначительными изменениями в некоторых случаях этот метод обычно применяют для синтеза всех хлорацетил- и глицил-L-аминокислот, перечисленных в табл. 61, а также их D-антиподов [253—255]. Путь синтеза хлорацетил-L-серина показан на схеме:



Типичная методика 4. Моногидрат хлорацетил-L-серина (LXIV) [253]. В колбе Эрленмейера емкостью 100 *мл* растворяют 0,1 моля L-серина (LXIII)

Таблица 61

Физические константы хлорацетил- и глицил-L-аминокислот [253]

Аминокислота	Хлорацетил-L-аминокислоты			Глицил-L-аминокислоты	
	т. пл.[а], °С	$[\alpha]_D^{25}$, градусы	концентрация и растворитель	$[\alpha]_D^{25}$, градусы	концентрация и растворитель
Аланин	93	—45,4	2%, H_2O	—51,0	2%, H_2O
α-Амино-*н*-масляная кислота	118	—31,5	2%, H_2O	—31,0	2%, H_2O
Валин	114	+15,0	2%, EtOH	—19,9	2%, H_2O
Норвалин	104	—25,8	2%, H_2O	—27,5	2%, H_2O
Лейцин	133	—15,8	2%, EtOH	—36,3	2%, H_2O
Норлейцин	76	—17,0	2%, H_2O	—16,0	2%, H_2O
Изолейцин	74	+24,0	2%, EtOH	—14,1	2%, H_2O
алло-Изолейцин	106	+25,0	2%, EtOH	—5,2	2%, H_2O
Метионин	98	—19,7	2%, H_2O	—10,2	2%, H_2O
Серин	58	+5,5[б]	5%, H_2O	—7,2	2%, H_2O
Треонин	111	+7,5	5%, H_2O	—16,2	2%, H_2O
Фенилаланин	125	+50,4	2%, EtOH	+41,5	2%, H_2O
Тирозин	155	+59,0	2%, EtOH	+44,0	1%, H_2O
Триптофан	158	+32,0	2%, EtOH	+34,3	2%, 5 н. HCl
Глутаминовая кислота	142	—14,4	2%, H_2O	—6,8	5%, H_2O
Аспарагиновая кислота	144	+4,0	5%, H_2O	+12,5	2%, H_2O
Аспарагин	165	—2,5	5%, H_2O	—7,0	5%, H_2O
Лизин (α)	—	—	—	—10,0[в]	5%, H_2O
Глицин	100	—	—	—	—

[а] Все точки плавления даны в исправленном виде.

[б] В виде моногидрата.

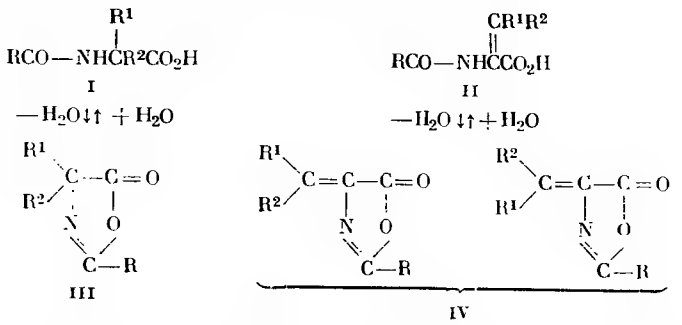
[в] В виде сульфата. Это соединение получено аммонолизом α-хлорацетил-ε-карбобензокси-L-лизина (масло) с последующим гидрогенолизом α-глицил-ε-карбобензокси-L-лизина в присутствии палладиевого катализатора (раздел 44).

в 25 *мл* охлажденного льдом 4 н. водного раствора NaOH. Затем раствор обрабатывают хлорацетилхлоридом (LXII) (0,15 моля) и 4 н. раствором NaOH (38 *мл*); поочередное добавление этих реагентов проводят в течение 30—45 *мин* при охлаждении в ледяной бане и периодическом энергичном встряхивании. Необходимо все время следить за тем, чтобы реакция протекала в щелочной среде и температура поддерживалась ниже 5°. После окончания добавления реагентов смесь оставляют на 10 *мин* на холоду с периодическим встряхиванием, затем подкисляют (pH 1,7) путем осторожного добавления концентрированной соляной кислоты и экстрагируют несколько раз этилацетатом. Объединенный этилацетатный раствор высушивают безводным сульфатом натрия и фильтрат упаривают досуха в вакууме при температуре около 40°. Оставшийся сироп промывают несколько раз петролейным эфиром, а затем растворяют в минимальном количестве горячего этилацетата. При охлаждении раствора до —15° хлорацетил-L-серин выкристаллизовывается в виде больших призм. Кристаллы с помощью сухого эфира переносят на фильтр, промывают эфиром и перекристаллизовывают из небольшого

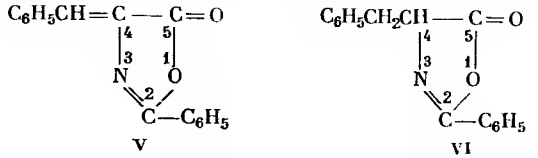
объема теплого этилацетата. После высушивания на воздухе выход чистого белого кристаллического вещества составляет около 40% теории. Продукт реакции получается в виде моногидрата; $[\alpha]_D^{25°}$ +5,5° (5%, в воде), т. пл. 58°. Кристаллизационную воду удаляют путем высушивания в вакууме и в результате получают безводное вещество в виде стекловидной массы.

Глицил-L-серин (LXV) [253]. Моногидрат хлорацетилсерина растворяют в 20-кратном (по весу) количестве 25% водного раствора аммиака, смесь оставляют на 72 *час* при комнатной температуре и затем раствор упаривают досуха в вакууме. Остаток промывают несколько раз этанолом, растворяют в небольшом количестве воды и раствор снова упаривают. Эту операцию повторяют еще дважды, после чего остаток промывают несколько раз этанолом, растворяют в небольшом количестве воды и кристаллизуют путем добавления 10-кратного объема метанола. Такую перекристаллизацию из водного метанола повторяют до тех пор, пока кристаллы не будут давать отрицательной пробы Несслера на аммиак. Выход около 80% теории, $[\alpha]_D^{25°}$ —7,2° (2%, в воде).

8. Азлактонный метод синтеза насыщенных и ненасыщенных пептидов. *Принцип.* Азлактоны можно рассматривать как пятичленные внутренние ангидриды, которые образуются путем отщепления элементов воды от α-ациламино- (I) или от α-ацилдегидроаминокислот (II). В зависимости от природы исходного соединения азлактоны можно классифицировать на *насыщенные* типа III и *ненасыщенные* типа IV:

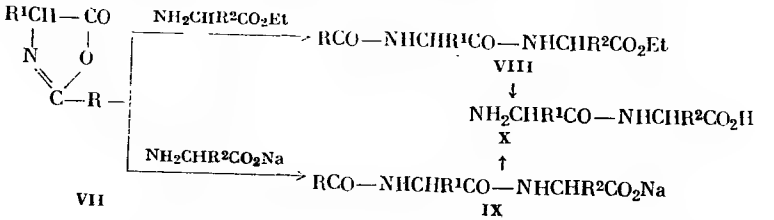


Благодаря наличию двойной связи в положении C_4 *ненасыщенные* азлактоны могут существовать в виде *цис*- и *транс*-стереоизомерных форм (IV). В данном разделе азлактонам даются названия, исходя из соответствующих аминокислот или производных оксазолона. Так, например, соединение V может быть названо азлактоном бензоил-α-аминокоричной кислоты или 2-фенил-4-бензаль-5-оксазолоном, а соединение VI — азлактоном бензоилфенилаланина или 2-фенил-4-бензил-5-оксазолоном.

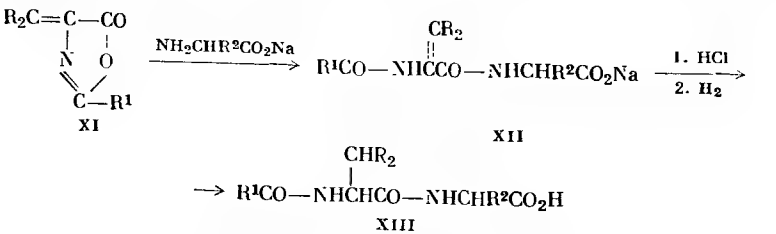


Частичный гидролиз *насыщенных* азлактонов водой или спиртом протекает с медленным расщеплением азлактонного цикла и одновременным

регенерированием исходной ациламинокислоты, если реакция проводится в воде, или эфира ациламинокислоты в случае использования спирта. Аналогичные реакции с аминами протекают значительно легче и приводят к соответствующим амидам. Так, при взаимодействии насыщенного азлактона (VII) с эфиром или натриевой солью аминокислоты получается соответствующее производное ацилдипептида (VIII и IX). Эта реакция использована Мором и Штрошейном [256] в 1908 г. для синтеза первого пептидного производного, полученного азлактонным методом. Превращение соединений VIII и IX в свободный пептид X (после омыления сложноэфирной группы первого соединения или нейтрализации натриевой соли в случае второго) может быть осуществлено избирательным гидролизом ацильного заместителя.

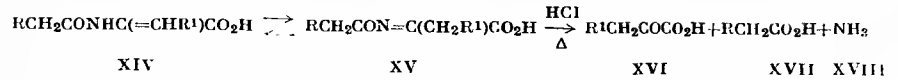


В отличие от насыщенных азлактонов соответствующие им *ненасыщенные* соединения не изменяются при продолжительном воздействии воды и даже могут быть перекристаллизованы из горячего этанола. Сильные кислоты и щелочи гидролизуют ненасыщенные азлактоны до ацилдегидроаминокислот, тогда как расщепление под действием спирта в присутствии алкоголята натрия протекает с образованием эфира ацилдегидроаминокислоты. Хотя ненасыщенные азлактоны вступают в конденсацию с аминами, однако с меньшей легкостью (и процесс протекает при комнатной температуре гораздо медленнее), чем в случае аналогичной реакции с насыщенными азлактонами. Скорость реакции заметно возрастает с повышением температуры, однако в ряде случаев смесь приходится нагревать довольно продолжительное время при 50—100°. Так, при взаимодействии ненасыщенных азлактонов (XI) с натриевой солью или эфиром аминокислоты (например, $NH_2CHR^2CO_2Na$) образуются соединения, которые содержат остаток дегидроаминокислоты, примыкающий к ацильному заместителю. Такие *дегидропептиды* (XII) в подходящих условиях могут быть превращены в соответствующие насыщенные пептиды (XIII), в которых остаток образующейся аминокислоты полностью рацемизован.



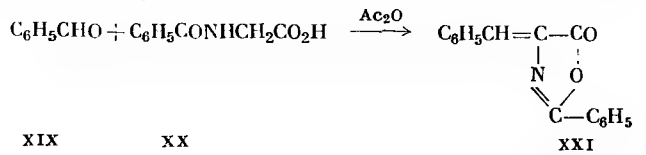
При действии горячих разбавленных минеральных кислот дегидропептид (который можно представить в виде таутомерных форм XIV и XV) превращается в соответствующую α-кетокислоту (XVI), карбоновую кислоту (XVII),

соответствующую ацильному остатку, и аммиак.

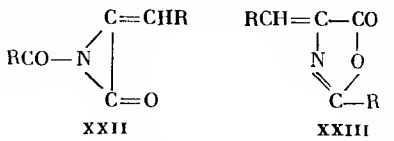


Следует отметить, что те же самые соединения образуются из дегидропептидов, содержащих соответствующие заместители R и R′, также и при инкубации с разнообразными растительными и животными тканями в мягких физиологических условиях. Действительно, в таких условиях пептидные связи некоторых дегидропептидов легко и быстро энзиматически гидролизуются препаратами всех растительных и животных тканей, изученных до сих пор (ср. с работой [257]). Энзим, вызывающий такое превращение, получил название *дегидропептидазы*.

Получение ненасыщенных азлактонов. Синтез первого ненасыщенного азлактона (XXI) был осуществлен в 1883 г. Плёхлем [258] конденсацией бензальдегида (XIX) с гиппуровой кислотой (XX) в присутствии уксусного ангидрида. Вначале предполагали



[259], что азлактоны, полученные таким путем, имеют строение с трехчленным циклом, как показано формулой XXII, однако исследованиями Эрленмейера [260] в 1900 г. было показано, что эти соединения обладают пятичленным циклическим строением (XXIII), которое в настоящее время является общепринятым. Название *азлактон* было дано этим соединениям Эрлен-



мейером [260], который распространил метод их получения на другие альдегиды и, кроме того, показал возможность использования азлактонов как промежуточных соединений для синтеза α-кето- и α-аминокислот. Для получения целого ряда ненасыщенных азлактонов впоследствии были использованы различные синтетические методы, которые подробно рассмотрены Картером [261] в его интересном обзоре, а также кратко излагаются ниже:

а) Конденсация ароматического или алифатического альдегида (XXIV) с ацилглицином (XXV) в присутствии уксусного ангидрида и иногда с добавлением ацетата натрия [260, 262—266], ацетата меди [267], ацетата свинца [268, 269], карбоната калия [271] или бикарбоната калия [271] в качестве катализатора.

Типичная методика 5 [270]. 2-Метил-4-бензаль-5-оксазолон (XXVIII; $R = C_6H_5$, $R' = CH_3$). Смесь 58,5 *г* (0,5 моля) ацетилглицина (XXV; $R' = CH_3$), 30 *г* (0,37 моля) безводного ацетата натрия, 79 *г* (0,74 моля) свежеперегнанного бензальдегида (XXIV; $R = C_6H_5$) и 134 *г* (1,25 моля) 95%-ного уксусного ангидрида помещают в литровую колбу Эрленмейера, прикрытую корковой пробкой, и при периодическом перемешивании нагревают на паровой бане до полного растворения (10—20 *мин*). Раствор кипятят 1 *час*, охлаждают

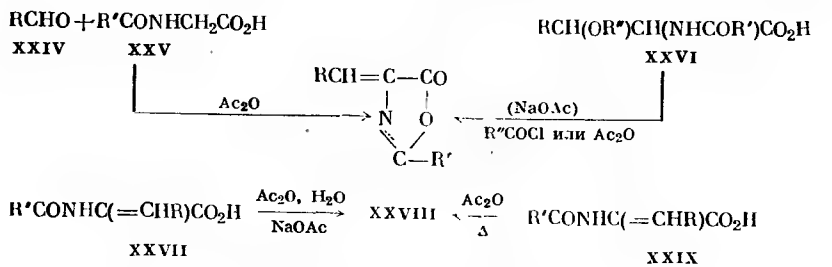
и оставляют на ночь в холодильнике. Полученную твердую кристаллическую массу обрабатывают 125 *мл* холодной воды (растирая твердые частицы палочкой), фильтруют на воронке Бюхнера и тщательно промывают холодной водой. После высушивания в вакууме над фосфорным ангидридом и едким кали выход неочищенного азлактона составляет 69—72 *г* (74—77% теории). Продукт реакции, который плавится при 148—150° и является достаточно чистым для препаративных целей, может быть перекристаллизован из этилацетата или четыреххлористого углерода с добавлением петролейного эфира; т. пл. 151—152°.

б) Действие избытка уксусного ангидрида на ацилдегидроаминокислоту (XXIX) или на α-галогенациламинокислоту (XXX) в присутствии пиридина [272—277].

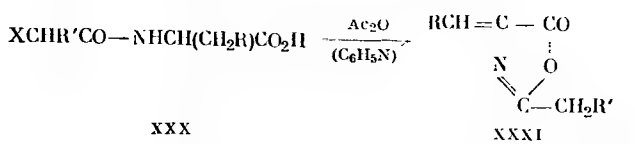
в) Взаимодействие водного раствора ацилдегидроаминокислоты (XXVII) с уксусным ангидридом в присутствии ацетата натрия [273].

г) Действие уксусного ангидрида или какого-либо хлорангидрида на α-ациламино-β-окси (алкокси или ацилокси) кислоту (XXVI) в безводных условиях или в воде в присутствии ацетата натрия [265, 273, 274, 278—281].

Указанные методы, из которых наиболее часто применяют метод «а», представлены ниже.



или

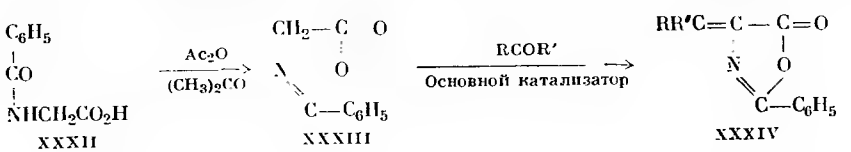


В качестве другого пути синтеза 2-метил-5-оксазолонов [272, 282] был предложен удобный метод, предусматривающий использование свободного глицина вместо ацилированной аминокислоты. Этот метод заключается, в сущности, во взаимодействии глицина с уксусным ангидридом с образованием соответствующего ацетильного производного. Однако последнее соединение не выделяют, а сразу в растворе обрабатывают альдегидом, ацетатом натрия и избытком уксусного ангидрида; при этом отпадает необходимость в предварительном выделении ацетилглицина.

Типичная методика 6 [272]. 2-Метил-4-бензаль-5-оксазолон (XXVIII; $R = C_6H_5$, $R' = CH_3$). Смесь 20 *г* глицина, 33 *мл* бензальдегида, 100 *мл* уксусного ангидрида и 12 *г* безводного ацетата натрия при перемешивании постепенно нагревают до 100° до полного растворения осадка, после чего смесь поддерживают при слабом кипении в течение 45 *мин*. После охлаж-

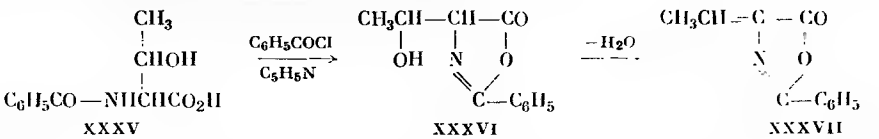
дения до 20° избыток уксусного ангидрида разлагают путем добавления 150 *мл* воды при непрерывном встряхивании. Вскоре начинают выпадать кристаллы азлактона, которые отфильтровывают и осторожно промывают небольшим количеством эфира (азлактоны в небольшой степени растворимы в эфире). Выход 22—25 *г* (44—50% теории). После перекристаллизации из четыреххлористого углерода или из этилацетата с добавлением петролейного эфира т. пл. 151—152°.

Синтетические исследования в области пенициллина, а также первоначальное предположение о тиазолидиноксазолоновом строении его молекулы в начале сороковых годов в значительной степени стимулировали интерес к изысканию общих путей получения и к исследованию химии оксазолонов. Значительная часть экспериментальных и теоретических исследований по химии оксазолонов, выполненных в течение этого плодотворного периода, подробно обсуждена Корнфортом в исчерпывающей монографии [283], изданной под редакцией Кларка, Джонсона и Робинсона. Получение многих новых ненасыщенных азлактонов, описанных в этой монографии, осуществлено в основном с помощью вышеприведенных или видоизмененных общих методов. Помимо их практической значимости, эти синтетические исследования послужили для изучения ряда интересных теоретических проблем. Так, например, частичное выяснение механизма синтеза азлактонов по Эрленмейеру явилось следствием наблюдения, что 2-фенил-5-оксазолон (XXXIII), полученный из гиппуровой кислоты (XXXII) и уксусного ангидрида в растворе ацетона, способен затем реагировать с ацетоном в отсутствие уксусного ангидрида, но при наличии ацетата натрия образует 2-фенил-4-изопропилиден-5-оксазолон (XXXIV; R = R′ = CH_3). Аналогично этому конденсация холодных спиртовых растворов соединения XXXIII с бензальдегидом (RCOR′; R = C_6H_5, R′ = H) или другими альдегидами легко протекает в присутствии основных катализаторов, например пиридина или N-этилпиперидина, с образованием 2-фенил-4-бензилиден-5-оксазолона (XXXIV; R = C_6H_5, R′ = H). Эти данные позволили с большой долей вероятности предположить, что образование производных типа 2-фенил-5-оксазолона предшествует замещению в C_4-положение азлактонного кольца.

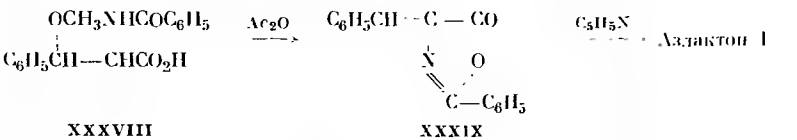


В связи с этим представляет значительный теоретический интерес возможность существования ненасыщенных азлактонов в виде геометрических *цис*- и *транс*-изомеров. Такая изомерия была экспериментально установлена серией исследований азлактонов бензоиламинокротоновой и бензоиламинокоричной кислот, проведенных Картером в сотрудничестве со Стивенсом [273] и Риссером [274]. Первоначально эти исследования [273] касались превращения N-бензоил-O-метил-DL-*алло*-треонина в азлактон бензоил-α-аминокротоновой кислоты II по ранее описанному методу «г». Было показано, что последнее соединение изомерно низкоплавкому азлактону I (XXXVII), полученному ранее [279] взаимодействием N-бензоильного производного DL-треонина или *алло*-треонина (XXXV) с уксусным ангидридом или хлористым бензоилом в пиридиновом растворе. Реакция, по-видимому, протекала через образование азлактонного цикла с последующим спонтан-

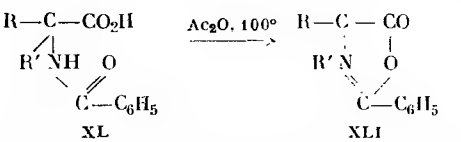
ным элиминированием молекулы воды.



При обработке азлактона II пиридином в течение нескольких минут при комнатной температуре он легко превращается с почти количественным выходом в азлактон I [273]. Аналогичным образом при действии уксусного ангидрида на бензоил-(O-метил)-фенил-DL-серин (XXXVIII) может быть получен азлактон II бензоил-α-аминокоричной кислоты (XXXIX) [274]. Полученная геометрическая форма (XXXIX) оказалась изомерной исследованному ранее Эрленмейером [260, 264] более высокоплавкому азлактону I и действительно легко превращалась в последний при обработке пиридином.



Получение насыщенных азлактонов. Относительная легкость, с которой насыщенные азлактоны способны подвергаться гидролизу, была, по-видимому, причиной неудач первоначальных попыток выделения этих соединений [266]. Лишь через приблизительно пятнадцать лет после синтеза первого ненасыщенного азлактона Мор и Гейс [284] описали в 1908 г. получение первого насыщенного азлактона — 2-фенил-4,4-диметил-5-оксазолона (XLI; R = R′ = CH_3). Это соединение было получено нагреванием 1 моля бензоил-α-аминоизомасляной кислоты (XL; R = R′ = CH_3) и 1,2 моля уксусного ангидрида в течение 1 *час* при 100 °. Через год Мор и Штрошейн [256] синтезировали аналогичным путем насыщенные азлактоны бензоил-DL-аланина (XLI; R = H, R′ = CH_3) и бензоил-DL-фенилаланина (XLI; R = H, R′ = $CH_2C_6H_5$).



Типичная методика 7 [283]. 2-Фенил-5-оксазолон (XLI; R = R′ = H). Смесь 100 *г* гиппуровой кислоты (XL; R = R′ = H) и 300 *мл* уксусного ангидрида нагревают на паровой бане при перемешивании до получения прозрачного раствора. Растворитель отгоняют путем нагревания в вакууме водоструйного насоса, к горячему остатку добавляют 200 *мл* петролейного эфира (60—70°), смесь перемешивают и затем оставляют на холоду. Выпавший розоватый осадок отфильтровывают, промывают петролейным эфиром и высушивают в течение ночи в вакуум-эксикаторе. После перекристаллизации из абсолютного этанола выход 2-фенил-5-оксазолона составляет 44 *г* (49% теории), т. пл. 91—92°. При последующих перекристаллизациях температура плавления повышается до 94—95°.

Несмотря на то что впоследствии были разработаны другие пути синтеза насыщенных азлактонов, первый метод, основанный на использовании уксусного ангидрида, остался наиболее общим и широко применимым. Как более ранние, так и последующие синтезы насыщенных азлактонов проводились главным образом исходя из ациламинокислот, хотя часто использовались и свободные аминокислоты.

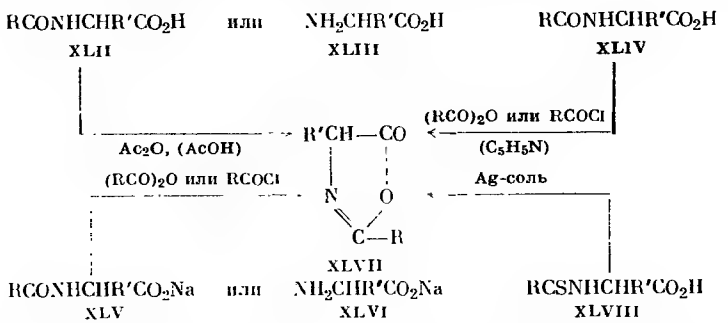
Методы синтеза, предусматривающие использование этих исходных веществ, перечислены ниже (ср. с работами [261, 283]:

а) Реакция аминокислоты (XLIII) или ее ацильного производного (XLII) с уксусным ангидридом непосредственно или с использованием уксусной кислоты в качестве растворителя [123, 256, 273, 274, 283—290].

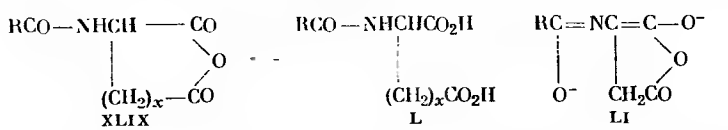
б) Взаимодействие ангидрида или хлорангидрида кислоты с натриевой солью аминокислоты (XLVI) или ациламинокислоты (XLV) [273, 278, 283].

в) Действие ангидрида или хлорангидрида кислоты на ациламинокислоту (XLIV) в пиридиновом растворе [279, 283, 291].

г) Действие серебряных солей, например бензолсульфоната серебра или окиси серебра, на фенилтиоацетильное (XLVIII; R = $C_6H_5CH_2$) или тиобензоильное (XLVIII; R = C_6H_5) производные аминокислот [283].



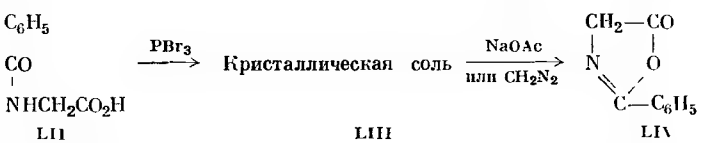
В связи с изложенным выше заслуживают специального обсуждения ацильные производные глутаминовой и аспарагиновой кислот. Так, Николе [292] показал, что ацилированная глутаминовая кислота (L; $x = 2$) при действии на нее уксусным ангидридом превращается в шестичленный циклический ангидрид (XLIX; $x = 2$), а не в азлактон. Аналогичное поведение ациласпарагиновых кислот (L; $x = 1$) было отмечено в дальнейшем Харингтоном и Оверхоффом [293], установившими, что обработка ацетил-L-аспарагиновой кислоты уксусным ангидридом при 95° ведет к образованию ангидрида ацетил-L-аспарагиновой кислоты, причем реакция не сопровождается заметной рацемизацией. При проведении же этой реакции при температуре кипения было выделено другое вещество, которое было принято



вначале за азлактон. Однако последующими исследованиями, проведенными независимо друг от друга Баркером и Свеном [293а], это соединение было идентифицировано как ангидрид ацетил-DL-аспарагиновой кислоты. Предполагалось, что происходящая рацемизация вызвана енолизацией ангидрида, как это представлено формулой LI, а не образованием промежуточного

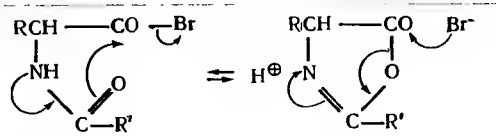
азлактона, как это обычно имеет место в случае других ацетиламинокислот (см. ниже).

В 1925 г. Каррер и Видмер [294] наметили новый путь синтеза азлактонов, получив взаимодействием диазометана с хлорангидридом гиппуровой кислоты соединение, которому приблизительно через шестнадцать лет было приписано [295] строение 2-фенил-5-оксазолона. В этой работе было установлено, что «взаимодействие диазометана с хлорангидридом гиппуровой кислоты протекает иначе, чем реакции между диазометаном и большинством других хлорангидридов. В данном случае диазометан является лишь средством для отщепления хлористого водорода». Такое своеобразное поведение «гиппурилхлорида» впоследствии нашло свое объяснение на основании предположения, что «галогениды» α-ациламинокислот фактически являются галогенгидратами оксазолонов [283]. Если эта точка зрения была правильной, то тогда можно было ожидать, что любой реагент, способный превращать ациламинокислоту в соответствующий хлорангидрид, в состоянии превратить это же соединение в галогенгидрат оксазолона. Доказательством, подтверждающим это предположение, явилось вначале наблюдение, что «гиппурилгалогенид» под действием воды или ацетата натрия гидролизуется до гиппуровой кислоты с промежуточным образованием 2-фенил-5-оксазолона. Действительно, при реакции между гиппуровой кислотой (LII) и трехбромистым фосфором была получена кристаллическая соль, которая в присутствии диазометана или ацетата натрия в органическом растворителе далее превращалась в 2-фенил-5-оксазолон (LIV). Аналогичным путем из соответствующих исходных веществ были синтезированы 2,4-дифенил-5-оксазолон и 2-бензил-4,4-диметил-5-оксазолон, тогда как 2-фенил-4-бензил-5-оксазолон был получен действием трехбромистого фосфора на бензоилфенилаланин в присутствии пиридина.



Хотя точка зрения на галогенангидриды ациламинокислот как на галогенгидраты оксазолонов обычно обосновывается тем, что эти соединения, как правило, по «внешнему виду и растворимости напоминают собой соли, способны в некоторых случаях превращаться в оксазолоны под действием очень мягких реагентов (например, воды), а также реагируют со спиртами и основаниями с образованием главным образом тех же продуктов, что и в случае оксазолонов» [283], тем не менее некоторые другие данные противоречат этой точке зрения. Примером такого рода данных является то, что при обработке 2-фенил-5-оксазолона хлористым водородом образуется нерастворяющийся в эфире осадок, тогда как хлорангидрид гиппуровой кислоты хорошо растворим в эфире. Кроме того, хотя некоторые хлорангидриды ациламинокислот обладают спектром поглощения, весьма характерным для исходного оксазолона, тем не менее другие хлорангидриды имеют весьма отличный спектр. Пока еще доказательства в пользу той или другой точки зрения слишком ограниченны для окончательного решения этого вопроса. Однако с имеющимися в настоящее время фактами лучше всего согласуется предположение, допускающее существование равновесия между структурой галогенангидрида α-ациламинокислоты (LV) и структурой галогенгидрата оксазолона (LVI), причем положение равновесия зависит от соответствую-

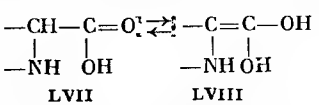
щих условий реакции.



LV LVI

Кроме ранее упомянутых методов, насыщенные азлактоны могут быть получены также каталитическим восстановлением соответствующих ненасыщенных азлактонов [283]. Так, гидрирование 2-фенил-4-бензилиден-5-оксазолона [V] над палладированным углем приводит к образованию 2-фенил-4-бензил-5-оксазолона (VI). При аналогичном восстановлении 2-фенил-4-изопропилиден-5-оксазолона получен соответствующий насыщенный аналог, который сам не был выделен, а действием анилина был сразу превращен в анилид бензоилвалина.

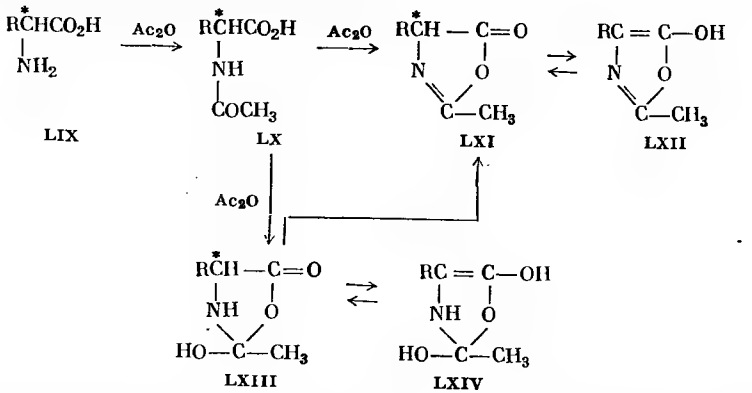
Рацемизация ациламинокислот через промежуточные насыщенные азлактоны. Поскольку C_4-атом насыщенных азлактонов по своей природе является асимметричным, то следовало бы ожидать, что эти соединения, вообще говоря, могут существовать в энантиоморфных D- и L-формах. Однако выделение этих оптических изомеров удается провести только в очень редких случаях, что может быть связано прежде всего с исключительной легкостью самопроизвольной рацемизации асимметрического центра C_4 азлактонного кольца. Первые данные о значительной склонности азлактонов к рацемизации получены в 1926 г. Бергманом и Кёстером [296], которые отметили поразительную легкость оптической инактивации L-аргинина при его превращении в α-моноацетильное производное при взаимодействии с избытком уксусного ангидрида на холоду. Для объяснения этой оптической инактивации было предложено два различных механизма; по первому из них *а*) предполагалось наличие кето-енольного сдвига между асимметрическим α-углеродным атомом и углеродным атомом карбоксильной группы, т. е. LVII ⇄ LVIII,



LVII LVIII

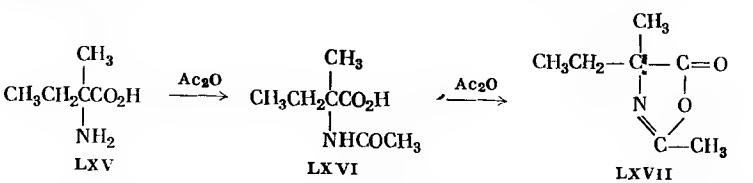
а второй б) был основан на таутомерном превращении ациламинокислоты при ацетилировании в промежуточный неустойчивый азлактон. Приблизительно через 2 года в одной из своих работ Бергман и Зервас [297] детально изучили азлактонный механизм рацемизации и установили, что при получении ацетиламинокислоты (LX) путем взаимодействия строго эквивалентных количеств уксусного ангидрида и оптически деятельной аминокислоты при 100° оптическая активность полностью сохраняется. Напротив, в присутствии двух или более молей уксусного ангидрида образуется изолируемый азлактон (LXI), который в свою очередь приводит к рацемическому ацетильному производному. Хотя при использовании в указанной реакции от одного до двух молей уксусного ангидрида выделить соответствующий азлактон не удается, тем не менее в данном случае имеет место *каталитическая рацемизация*, связанная, по-видимому, с образованием неустойчивого промежуточного азлактона (LXI), находящегося в равновесии с таутомерной формой (LXII). Был предложен также другой механизм рацемизации, предусматривающий образование промежуточного циклического

производного, способного к кето-енольной таутомерии (LXIII и LXIV), и его последующую дегидратацию в азлактон (LXI).



LIX LX LXI LXII LXIII LXIV

Предположение, что рацемизация связана с образованием промежуточного азлактона, было подтверждено рядом экспериментальных данных. Так, хотя α-ацетил-L-аргинин не претерпевает заметной рацемизации при кипячении в течение нескольких часов в ледяной уксусной кислоте, добавление к реакционной смеси небольшого количества уксусного ангидрида приводит к быстрой и полной потере оптической активности. Кроме того, в пользу рассмотренного механизма рацемизации, в котором определяющую роль играет кето-енольная перегруппировка, говорит и тот факт, что при действии горячего уксусного ангидрида на L-изовалин (LXV), не содержащий α-водородного атома, не наблюдается заметной потери оптической активности. В случае изовалина образование соответствующего азлактона (LXVII) вполне возможно, однако из-за отсутствия подвижного протона енолизация не может иметь места:



LXV LXVI LXVII

Напротив, рацемизация оптических форм гистидина, аргинина, глутаминовой кислоты и тирозина, содержащих α-водородный атом, протекает очень легко.

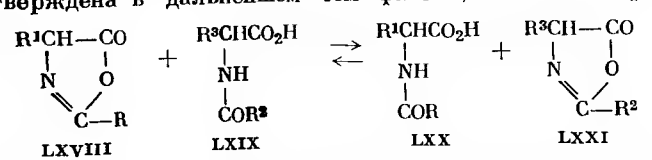
Описанный метод с небольшими изменениями был с успехом использован в лаборатории автора для получения некоторых рацемических аминокислот из их оптически активных форм. Вкратце этот метод заключается в обработке раствора оптически деятельной аминокислоты в горячей ледяной уксусной кислоте избытком уксусного ангидрида; соответствующие рацемические ацетильные производные обычно образуются с большой легкостью в течение нескольких минут. В связи с этим особенно интересно отметить, что рацемизация оптических изомеров диасимметрической аминокислоты, например изолейцина, протекает с образованием смеси эпимеров, в которых α-асимметрический центр полностью рацемизован, в то время как конфигурация β-асимметрического центра в основном остается неизмененной. Так,

L-изолейцин легко превращается в эпимерную смесь, состоящую из ацетильных производных L-изолейцина и D-*алло*-изолейцина [298]. Следует отметить также, что указанный метод в его настоящем виде не применим к таким аминокислотам, как серин или треонин, которые, по-видимому, в значительной степени дегидратируются в жестких условиях реакции. Однако недавно было найдено, что применение смеси ледяной уксусной кислоты с уксусным ангидридом позволяет провести рацемизацию даже очень лабильного L-цистина, причем в этих условиях не наблюдается значительной десульфуризации [299]. Ниже на примере L-лейцина подробно описаны экспериментальные условия рассмотренного метода рацемизации аминокислот.

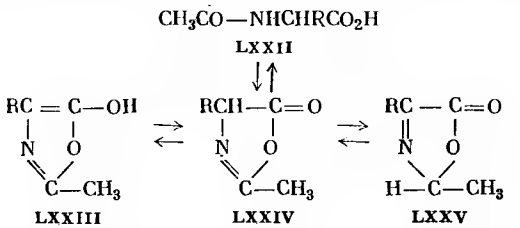
Типичная методика 8. Превращение L-лейцина в DL-лейцин. Один моль (131 *г*) L-лейцина растворяют в 10 объемах горячей ледяной уксусной кислоты, раствор нагревают до кипения и осторожно добавляют к нему 2,2 моля (207 *мл*) уксусного ангидрида. Реакционную смесь кипятят 5 *мин*, затем оставляют на 2 *час* при комнатной температуре и упаривают в вакууме досуха; к остатку добавляют небольшое количество воды и смесь снова упаривают. Остаток растворяют в горячем ацетоне и после добавления активированного угля раствор фильтруют в горячем состоянии. Фильтрат упаривают до небольшого объема, выпавший кристаллический осадок ацетил-DL-лейцина отфильтровывают и промывают сначала небольшим количеством холодного ацетона, затем эфиром и, наконец, высушивают в вакууме; т. пл. 159°, выход 85—95% теории.

Раствор 100 *г* ацетил-DL-лейцина в 1 *л* 2 н. соляной кислоты кипятят 2—3 *час* и реакционную смесь упаривают в вакууме досуха. Остаток растворяют в 100—200 *мл* воды и раствор снова упаривают. Оставшийся хлоргидрат DL-лейцина растворяют в минимальном количестве воды, pH раствора доводят до 5,5 с помощью раствора гидроокиси лития и затем добавляют десятикратный объем этанола. Смесь оставляют примерно на 6 *час* при 4°, осадок отфильтровывают, промывают спиртом и, наконец, перекристаллизовывают из водного спирта. Выход DL-лейцина составляет 80—90% теории.

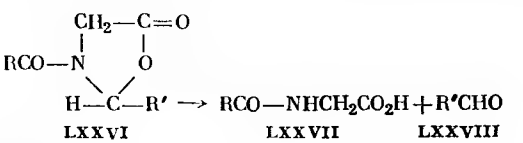
Рассмотренный механизм *каталитической рацемизации* α-ациламинокислот в ледяной уксусной кислоте [297] был в дальнейшем более детально изучен Картером и Стивенсом [273], которые показали, что бензоил-*n*-метокси-L-фенилаланин (LXIX; $R^2 = C_6H_5$, $R^3 = n\text{-}CH_3OC_6H_4CH_2$) в присутствии каталитических количеств других азлактонов, например азлактона бензоил-DL-аланина (LXVIII; $R = C_6H_5$; $R' = CH_3$), рацемизуется гораздо быстрее, чем в присутствии эквивалентного количества уксусного ангидрида. Такое поведение бензоил-*n*-метокси-ω-фенилаланина было объяснено тем, что между этой α-ациламинокислотой и азлактоном происходит химическая реакция, как это показано на схеме. Справедливость этого предположения была подтверждена в дальнейшем тем фактом, что бензоилфенилаланин



(LXIX; $R^2 = C_6H_5$, $R^3 = C_6H_5CH_2$) при нагревании с одним эквивалентом 2-бензил-4-метил-5-оксазолона (LXVIII; $R = C_6H_5CH_2$, $R^1 = CH_3$) превращается в 2-фенил-4-бензил-5-оксазолон (LXXI; $R^2 = C_6H_5$, $R^3 = C_6H_5CH_2$), который удалось выделить с хорошим выходом [283]. Дю Виньо в сотрудничестве с Силоком [300] и Мейером [301] установил, что действие уксусного ангидрида на водный раствор оптически активной ациламинокислоты (в виде натриевой соли или в присутствии ацетата натрия) также может привести к рацемизации. Этим методом осуществлена оптическая инактивация триптофана, метионина, глутаминовой кислоты, фенилаланина, аргинина и тирозина. Однако попытки рацемизовать аналогичным образом ацетил-L-пролин, который не может образовать азлактона, оказались безуспешными. На основании этих данных для рацемизации ациламинокислоты в водном растворе был предложен приведенный ниже механизм [302].

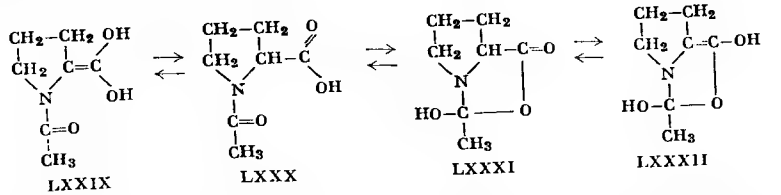


Предположение, что процесс рацемизации в воде протекает через неустойчивый промежуточный азлактон (LXXIV), находящийся в равновесии с таутомерной енольной формой (LXXIII), согласуется с механизмом, ранее предложенным для неводных систем Бергманом и Зервасом [297]. Хотя это представляется менее вероятным, все же не может быть полностью исключена возможность участия в этом процессе другой формы азлактона (LXXV), образующейся вследствие миграции протона к углеродному атому C_2 азлактонного цикла. В связи с этим необходимо отметить, что соединения аналогичного строения (LXXVI) были действительно получены Бергманом, Энслином и Зервасом [303]. Однако эти вещества оказались весьма чувствительными к мягкому гидролитическому расщеплению, приводящему к образованию альдегида (LXXVIII) и ациламинокислоты (LXXVII).



Неспособность ацильных производных пролина образовывать азлактоны и одновременно отсутствие у этих соединений склонности к рацемизации в водных растворах послужили хорошим подтверждением гипотезы, что процесс рацемизации, вызываемый уксусным ангидридом, осуществляется исключительно через промежуточное образование азлактонов [302]. Однако в более поздних исследованиях показано, что рацемизация оптически активных пролина [273, 304] и оксипролина [305] возможна в несколько более жестких условиях, а именно при нагревании в смеси уксусного ангидрида с уксусной кислотой. Поскольку в силу структурных соображений образование азлактонов из указанных аминокислот невозможно, то необходимо допустить возникновение в процессе рацемизации каких-либо других промежуточных соединений. Поэтому в данном случае становятся более вероятными другие предложенные ранее механизмы рацемизации, связанные с таутомерными кето-енольными превращениями ацилированных аминокислот [296, 297], как это показано на примере ацетилпролина (LXXX); однако при этом

нельзя полностью исключить возможность образования и других промежуточных соединений.

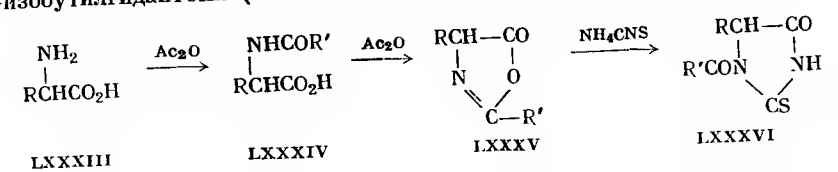


Оптически активные азлактоны. Несмотря на большую скорость рацемизации α-асимметрического центра оптически активных ациламинокислот при их превращении в азлактоны, существование оптически активных азлактонов теоретически вполне возможно. Так, Джонсон и Скотт [306] сообщили в 1913 г. о получении 1-ацил-2-тиогидантоинов (LXXXVI) путем взаимодействия α-ациламинокислот (LXXXIV) с уксусным ангидридом и тиоцианатом аммония. Возможность промежуточного образования в этой реакции соответствующего азлактона (LXXXV) следовала из того факта, что, в то время как 2-тиогидантоины могут быть получены из азлактонов в отсутствие уксусного ангидрида, присутствие этого реагента необходимо для получения 2-тиогидантоинов из α-ациламинокислот. На основании этих соображений мысль о существовании оптически активных азлактонов была высказана приблизительно через 20 лет Чонка и Николе [307], которые выделили оптически активный 1-ацетил-2-тио-5-метилгидантоин (LXXXVI; R = R′ = CH_3) при реакции между L-аланином (LXXXIII; R = CH_3) и пятикратным избытком уксусного ангидрида, содержащего немного более одного эквивалента тиоцианата аммония. Однако если при проведении этой реакции тиоцианат аммония добавляли приблизительно через 30 *мин* после инициирования реакции, то в результате получался рацемический продукт реакции, по-видимому при этом имела место каталитическая рацемизация [297], связанная с образованием промежуточного азлактона. Факты, позволяющие предположить образование промежуточного оптически активного азлактона (LXXXV; R = R′ = CH_3), приведены ниже.

а) В присутствии большого избытка уксусного ангидрида скорость образования азлактонов может оказаться настолько большой, что рацемизация будет лишь незначительной.

б) Если образовался *оптически активный азлактон*, то он может с достаточной скоростью реагировать с тиоцианатом аммония для стабилизации конечного продукта в виде тиогидантоина, рацемизованного в незначительной степени.

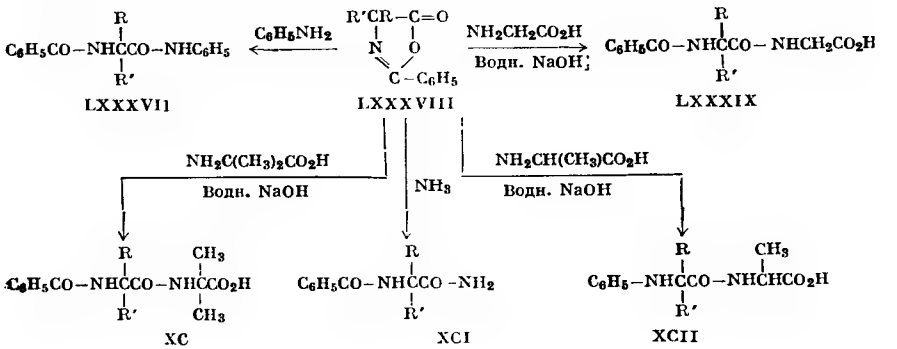
в) В отсутствие тиоцианата *оптически активный азлактон*, который должен образовываться в обоих случаях приблизительно с одинаковой скоростью, в данных условиях реакции полностью рацемизуется в течение получаса, а возможно, и быстрее [307]. Впоследствии из бензоил-L-лейцина аналогичным путем был получен оптически активный 1-бензоил-2-тио-5-изобутилгидантоин (LXXXVI); R = $CH_3CH(CH_3)CH_2$; R′ = C_6H_5 [283].



Если вышеупомянутое предположение Чонка и Николе [307] является правильным, то его подтверждением могла бы служить прямая констатация оптически активного азлактона до начала заметной рацемизации. В дальнейших исследованиях, предпринятых с этой целью, скорость образования азлактонов контролировалась с помощью спектров поглощения в сочетании с поляриметрическими измерениями [283]. Так, момент количественного превращения бензоил-L-лейцина в соответствующий оксазолон под действием уксусного ангидрида при комнатной температуре удалось обнаружить на основании изучения интенсивности, характерной для азлактона полосы поглощения в области 243 *ммк*. Поляриметрические измерения во время аналогичной реакции, проводимой в диоксане, показали, что первоначальное правое вращение раствора изменилось на противоположное и достигло максимума в тот момент, когда по данным УФ-спектра образование оксазолона в основном закончилось. Затем наблюдалось непрерывное уменьшение величины вращения, обусловленное рацемизацией, до тех пор пока не установилось постоянное очень небольшое правое вращение, по-видимому, из-за наличия примесей в исходном веществе. Располагая такими данными, удалось выделить несколько кристаллических оптически деятельных азлактонов, например 2-фенил-4-изобутил-5-оксазолон. Тем самым вопрос относительно участия оптически активных азлактонов в качестве промежуточных соединений в процессе образования тиогидантоинов был решен положительно.

Использование оптически активных азлактонов для синтеза эфиров или амидов аминокислот и пептидов неизбежно приводило к получению рацемических продуктов реакции [283]. Причина такого поведения может быть непосредственно связана с тем, что метанолиз и аминолиз протекают заметно медленнее, чем рацемизация. Напротив, следует отметить, что оксазолоны очень быстро и легко реагируют с тиоцианатами, что, по-видимому, и является причиной успешного выделения оптически активных тиогидантоинов.

Синтез пептидов и дегидропептидов через промежуточные азлактоны. В 1908 г. Мор и Гейс [284] впервые показали, что насыщенные азлактоны очень энергично реагируют с аминами. Так, при взаимодействии 2-фенил-4,4-диметил-5-оксазолона (LXXXVIII; R = R′ = CH_3) со спиртовым раствором аммиака был получен амид бензоил-α-аминоизомасляной кислоты (XCI; R = R′ = CH_3). Через год Мор и Штрошейн [256] распространили этот метод на реакции 2-фенил-4-метил-5-оксазолона (LXXXVIII; R = H, R′=CH_3) и 2-фенил-4-бензил-5-оксазолона (LXXXVIII; R= H, R′=$CH_2C_6H_5$) со спиртовым раствором аммиака, с анилином и с водно-щелочными раствора-



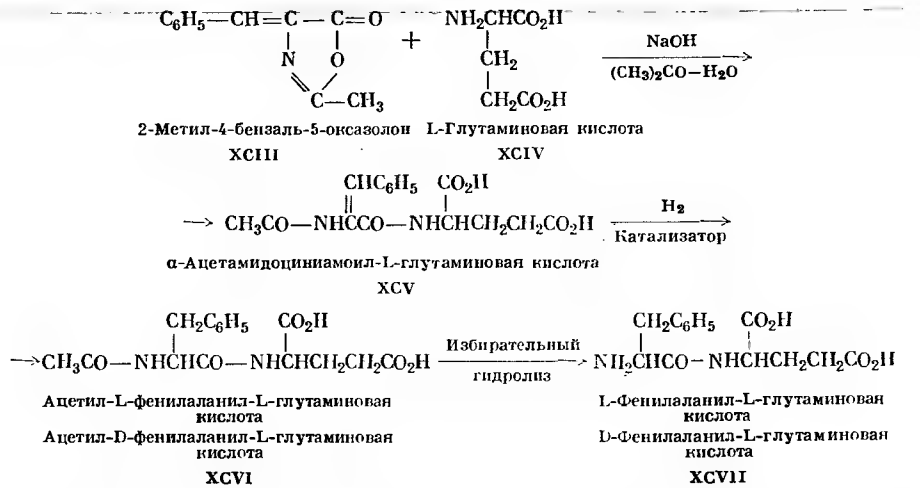
ми глицина, аланина и α-аминоизомасляной кислоты, в результате чего были получены соответствующие амиды или пептиды бензоил-DL-аланина и бензоил-DL-фенилаланина. Эти реакции представлены на приведенной выше схеме. В том случае, когда продуктами реакции являлись бензоилдипептиды, последние выделялись в виде рацематов, а если эти соединения содержали два асимметрических центра, то они представляли собой смеси эпимерных рацематов.

Полученные таким образом бензоилдипептиды способны далее вступать в аналогичные реакции, что достигается их превращением в соответствующий оксазолон с последующей его конденсацией с амином или аминокислотой. Эти предварительные исследования были более подробно описаны позднее Мором [285, 288, 289] в серии из пяти статей о лактоноподобных ангидридах ацилированных аминокислот. Хотя после этого и появилось несколько работ по синтезу пептидов с помощью насыщенных азлактонов, однако этот метод нашел лишь ограниченное применение в пептидной химии [123, 273, 283, 286]. В результате указанных исследований установлено, что реакция между насыщенным азлактоном и свободной аминокислотой в кипящем водном спирте в отсутствие щелочи может служить одним из путей синтеза данного пептида.

Типичная методика 9 [283]. Гиппурилглицин (LXXXIX; R = R′ = H). К раствору 0,9 *г* глицина в 50 *мл* 60%-ного спирта добавляют 2 *г* 2-фенил-5-оксазолона (LXXXVIII; R = R′ = H) (методика 7). Реакционную смесь кипятят 12 час, после чего спирт отгоняют. Кристаллический осадок, выпавший из оставшегося раствора, отфильтровывают и экстрагируют бензолом; при этом в раствор переходит 0,2 *г* исходного азлактона. Нерастворимый в бензоле осадок кристаллизуют несколько раз из горячей воды и получают 2 *г* гиппурилглицина; т. пл. 206°.

Стремясь расширить возможности пептидного синтеза, Бергман с сотрудниками с успехом использовали свойства азлактонов, позволяющие включать в пептидную цепь некоторые из более сложных аминокислот. В отличие от ранних исследований, в которых применялись только насыщенные азлактоны, в работах Бергмана были использованы ненасыщенные азлактоны, изученные ранее Эрленмейером и Фрюштюком [265]. На основе этих азлактонов был разработан ряд остроумных методов, которые привели к получению различных пептидов фенилаланина или тирозина, а также большого числа дегидропептидов. Эти исследования были начаты в 1926 г. Бергманом, Штерном и Витте [123], которые показали, что, хотя ненасыщенные азлактоны относительно устойчивы к холодной воде, они весьма легко реагируют с аминами. Как и в случае насыщенных азлактонов, взаимодействие ненасыщенного азлактона с щелочной солью аминокислоты протекает с раскрытием цикла и сопровождается образованием пептидной связи. Этот метод был впоследствии использован для синтеза значительного числа дегидропептидов, содержавших в качестве С-концевого остатка остатки глицина, лейцина, глутаминовой кислоты, тирозина, аргинина, серина, фенилаланина, фенилсерина и цистина [123—125, 308—314]. Полученный N-ацилированный дегидропептид может быть превращен каталитическим гидрированием в соответствующее производное насыщенного пептида. В некоторых случаях отщепление ацильного заместителя удавалось осуществить путем избирательного кислотного гидролиза и получить таким образом свободный пептид. В качестве примера использования этого метода можно привести синтез фенилаланилглутаминовой кислоты (XCVII) [123], который воспроизведен

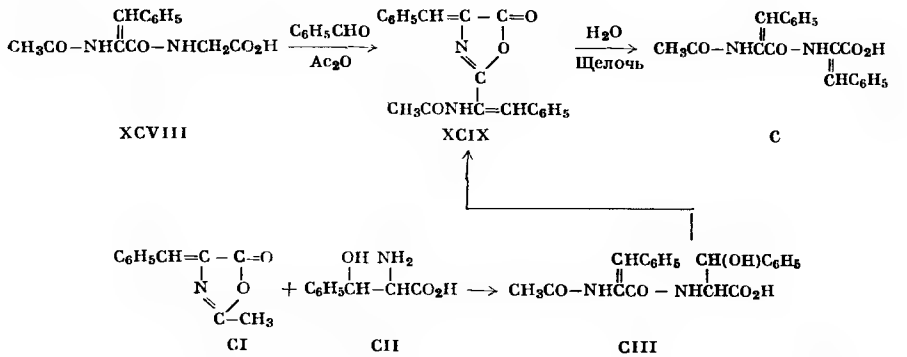
на схеме:



Поскольку восстановление дегидропептида в соответствующее производное насыщенного пептида сопровождается появлением асимметрического углеродного атома, то возникает проблема разделения образующихся диастереоизомеров. В приведенном на схеме синтезе превращение остатка оптически неактивного дегидрофенилаланина в остаток рацемического фенилаланина, входящего в состав молекулы, уже содержащей остаток L-глутаминовой кислоты, приводит к образованию ацилдипептида (XCVI), состоящего из эпимерной смеси D-L- и L-L-стереоизомеров. В этом случае разделение диастереоизомеров было осуществлено дробной кристаллизацией, причем оба оптически активных изомера были получены в оптически чистом состоянии. К сожалению, такое разделение не всегда проходит с успехом. Так, например, при синтезе D-фенилаланил-L-аргинина [124] и D-тирозил-L-аргинина [125] из соответствующих промежуточных дегидропептидов L-L-стереоизомеры вообще не были выделены. Протекало ли в данном случае гидрирование асимметрически с образованием только одной стереоизомерной формы или же L-L-форма была потеряна в процессе выделения — выяснить не удалось. Однако, несмотря на эти очевидные недостатки, указанный метод позволил осуществить синтез таких пептидов, как, например, DL-гистидилглицин [290], которые до сих пор не удавалось получить другим путем.

Доэрти, Тицманом и Бергманом [308] было показано, что дегидропептиды, содержащие С-концевой остаток глицина, при взаимодействии с ароматическими альдегидами при 40° в присутствии уксусного ангидрида и ацетата натрия образуют азлактоны ненасыщенных пептидов. Так, например, реакция между ацетилдегидрофенилаланилглицином (XCVIII) и бензальдегидом приводит к образованию азлактона (XCIX), который путем щелочного гидролиза был превращен в дважды ненасыщенный пептид — ацетилдегидрофенилаланилдегидрофенилаланин (C). Использование *п*-оксибензальдегида вместо бензальдегида дало возможность синтезировать пептиды, содержащие остаток дегидротирозина. В свою очередь при конденсации 2-метил-4-бензаль-5-оксазолона (CI) с *транс*-фенилсерином (CII) с последующей обработкой полученного пептида (CIII) смесью уксусного ангидрида и ацетата натрия

при комнатной температуре удалось получить азлактон (XCIX). Было высказано предположение, что превращение пептида (CIII) в азлактон протекает не путем простого элиминирования двух молекул воды, а через промежуточную стадию, причем сначала β-гидроксильная группа остатка фенилсерина ацетилируется, а затем от полученного производного отщепляется один моль уксусной кислоты:



Типичная методика 10 [308]. Ацетилдегидрофенилаланилглицин (XCVIII). К суспензии 30 *г* глицина в 400 *мл* ацетона добавляют при перемешивании 400 *мл* 1 н. NaOH и через несколько минут 75 *г* 2-метил-4-бензаль-5-оксазолона (методики 5 и 6). Через несколько часов к прозрачному раствору добавляют 410 *мл* 1 н. HCl; после охлаждения смеси до 0° выпадает кристаллический осадок ацетилдегидрофенилаланилглицина (95 *г*). Продукт реакции кристаллизуют из водного раствора бикарбоната калия путем добавления соляной кислоты; т. пл. 194—195° (исправленная). Синтез ацетилдегидрофенилаланилпроизводных L-аланина, L-аргинина, L-глутаминовой кислоты, L-лейцина, L-фенилаланина, L-пролина, DL-серина и L-тирозина может быть в основном осуществлен аналогичным способом, исходя из соответствующей аминокислоты вместо глицина (табл. 62).

Азлактон ацетилдегидрофенилаланилдегидрофенилаланина (XCIX). 65 *г* Ацетилдегидрофенилаланилглицина тщательно смешивают с 75 *мл* уксусного ангидрида, 30 *мл* бензальдегида и 17 *г* безводного ацетата натрия и реакционную смесь оставляют на 2 дня при комнатной температуре. Затем избыток уксусного ангидрида разлагают 75 *мл* воды при 0°, смесь фильтруют и получают 60 *г* нужного азлактона, который перекристаллизовывают из водного ацетона; т. пл. 184—185° (исправленная).

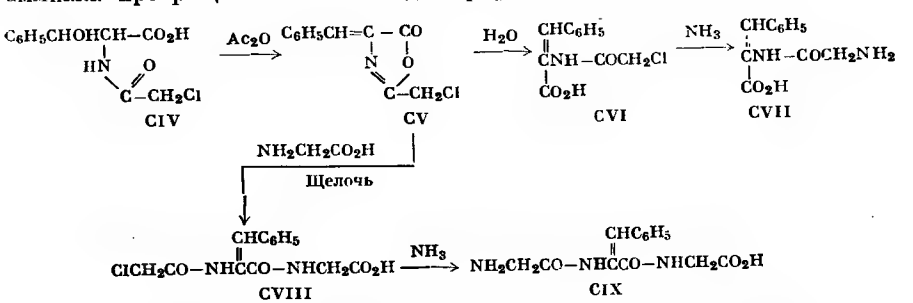
Ацетилдегидрофенилаланилдегидрофенилаланин (C). В смеси 300 *мл* ацетона и 125 *мл* 1 н. раствора едкого натра растворяют 30 *г* азлактона (XCIX) и примерно через 2 *час* добавляют 130 *мл* 1 н. HCl. При этом выпадает осадок в виде игл ярко-желтого цвета; кристаллы растворяют в кипящей смеси 500 *мл* этанола и 230 *мл* воды и продукт реакции высаживают путем добавления воды при 0°. Выход 28 *г*; т. пл. 204—205° (с разложением, исправленная).

Промежуточный азлактон (XCIX) был использован также для удлинения цепи дегидропептида путем взаимодействия с соответствующей аминокислотой в смеси ацетона с водной щелочью. Тем самым удалось осуществить синтез дважды ненасыщенных трипептидов. Аналогичным образом дегидропептиды после их превращения в соответствующие азлактоны могут быть использованы для получения три-, тетра- и пентапептидов, содержащих

от двух до четырех двойных связей. Благодаря использованию этих методов Бергману с сотрудниками удалось осуществить синтез большого числа дегидропептидов различного состава, многие из которых приведены в табл. 62. Следует отметить, что поскольку у пептидов и азлактонов, содержащих одну или более двойных связей, имеется возможность для *цис-транс*-изомерии, то можно ожидать, что эти соединения существуют в нескольких стереоизомерных формах.

Типичная методика 11 [308]. Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-глицин. Для получения этого ацилированного трипептида смесь 4,7 *г* глицина, 100 *мл* ацетона, 62,5 *мл* 1 н. раствора NaOH и 20,7 *г* соответствующего азлактона (XCIX) (методика 10) перемешивают при комнатной температуре. Через 3—4 *час* прозрачный раствор подкисляют 65 *мл* 1 н. соляной кислоты; при охлаждении смеси до 0° выпадает около 24,5 *г* трипептида, кристаллизующегося в виде пластинок. Осадок растворяют в смеси 600 *мл* воды и 250 *мл* метанола с добавлением 12 *г* бикарбоната натрия. При подкислении полученного раствора соляной кислотой и последующем добавлении небольшого количества эфира выпадает кристаллический осадок пептида. Для перекристаллизации вещество растворяют в 1 *л* горячего метанола, содержащего 100 *мл* воды, и затем добавляют к раствору 1 *л* воды; выход 21,7 *г*, т. пл. 216° (с разложением, исправленная). Аналогичным путем при замене глицина соответствующей аминокислотой могут быть получены ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-производное L-аланина, L-глутаминовой кислоты, L-лейцина, L-фенилаланина, DL-фенилсерина, L-пролина и L-тирозина (табл. 62).

Бергманом и Штерном [272] показано, что для синтеза ненасыщенных азлактонов вместо соответствующих альдегидов можно использовать галогенациламинокислоты. Так, например, хлорацетильные производные фенилаланина [272] и лейцина [308] при нагревании с уксусным ангидридом легко превращаются в соответствующие ненасыщенные азлактоны путем отщепления одной молекулы воды и одной молекулы хлористого водорода. Однако если дегидратировать хлорацетилфенилсерин (CIV), действуя на него уксусным ангидридом в строго контролируемых условиях, то образование соответствующего азлактона (CV) может протекать без затрагивания хлорацетильной группировки [281]; при гидролизе азлактона (CV) разбавленной щелочью происходит раскрытие цикла с образованием хлорацетилдегидрофенилаланина (CVI), который путем аминирования действием водного раствора аммиака превращается в глицилдегидрофенилаланин (CVII).



Глицилдегидрофенилаланин можно считать первым представителем класса ненасыщенных пептидов, содержащих как свободную α-аминогруппу, так и свободную α-карбоксильную группу. Доступность этих веществ

Таблица 62

Некоторые дегидропептиды, полученные Бергманом и его сотрудниками с использованием азлактонного метода

Дегидропептид	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Дипептиды с одной двойной связью					
Ацетилдегидролейцилглицин	185—187	—	—	—	308
Ацетилдегидрофенилаланил-L-аланин	195—196	+69,4	32	2%, пиридин	124
Ацетилдегидрофенилаланил-L-аргинин	192—193	—18,0	23	9,4% H_2O	124
Ацетилдегидрофенилаланил-L-глутаминовая кислота	170	—4,6	22	8,9% пиридин	123
Ацетилдегидрофенилаланилглицин	194—195	—	—	—	314
Ацетилдегидрофенилаланил-L-лейцин	218—219	+37,2	31	2,5% пиридин	313
Ацетилдегидрофенилаланил-L-фенилаланин	213—215	+37,6	28	5%, пиридин	308
Ацетилдегидрофенилаланил-DL-фенилсерин	226—228	—	—	—	308
Ацетилдегидрофенилаланил-L-пролин	140—142	+80,5	32	2%, пиридин	313
Ацетилдегидрофенилаланил-DL-серин	179	—	—	—	311
Ацетилдегидрофенилаланил-L-тирозин	217—218	+47,1	20	2,3%, пиридин	123
Ацетил-DL-фенилаланилдегидрофенилаланин	206—207	—	—	—	308
Бензоилдегидрофенилаланилглицин	200—201	—	—	—	308
Бензоилдегидрофенилаланил-DL-фенилсерин	180	—	—	—	308
Карбобензоксиглицилдегидрофенилаланин	141—142	—	—	—	308
Хлорацетилдегидрофенилаланил-L-глутаминовая кислота	91—92	—	—	—	281
Хлорацетилдегидрофенилаланилглицин	>200	—	—	—	281
Глицилдегидрофенилаланин	277	—	—	—	281
Глицилдегидрофенилаланил-L-глутаминован кислота	174	—	—	—	281
Глицилдегидрофенилаланилглицин	224	—	—	—	281
Дипептиды с двумя двойными связями					
Ацетилдегидролейцилдегидрофенилаланин	215—216	—	—	—	308
Ацетилдегидрофенилаланилдегидрофенилаланин	204—205	—	—	—	308
Ацетилдегидрофенилаланилдегидротирозин	218	—	—	—	308
Бензоилдегидрофенилаланилдегидрофенилаланин	180—181	—	—	—	308
Бензоилдегидрофенилаланилдегидротирозин	164—166	—	—	—	308
Трипептиды с одной двойной связью					
Карбобензоксиглицилдегидрофенилаланил-L-глутаминован кислота	177—179	—20,6	28	4,8%, пиридин	308
Карбобензоксиглицилдегидрофенилаланил-DL-фенилсерин	168—170	—	—	—	308
Трипептиды с двумя двойными связями					
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-L-аланин	215—216	—268,4	29	2,3%, пиридин	308
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-L-глутаминовая кислота	209—210	—182,6	30	Пиридин [a]	308
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-глицин	216	—	—	—	308
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-L-лейцин	235—236	—245,6	32	2%, пиридин	308
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-L-фенилаланин	229—230	—172,2	28	5%, пиридин	308
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-DL-фенилсерин	223—225	—	—	—	308
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-L-пролин	203—204	+50,6	29	2%, пиридин	308
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-L-тирозин	172—173,5	—137,1	30	2,1%, пиридин	308
бис-(Ацетилдегидрофенилаланил)-L-цистин	212—213	—19,5	30,5	2%, пиридин	308
Тетрапептиды с тремя двойными связями					
Ацетил-*три*-(дегидрофенилаланил)-L-фенилаланин	201—202	—36,3	30	2,3%, пиридин	308
Ацетил-*три*-(дегидрофенилаланил)-DL-фенилсерин	199	—	—	—	308
Пентапептиды с четырьмя двойными связями					
бис-(Ацетилдегидрофенилаланилдегидрофенилаланил)-L-цистин	209—211	—82,3	30	2%, пиридин	308

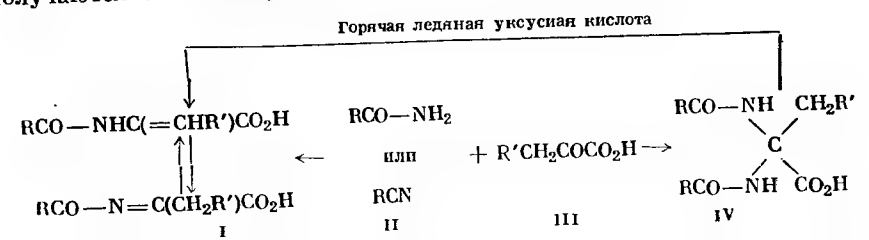
[a]) Концентрация не указана.

облегчала и стимулировала использование соединений указанного типа при изучении метаболизма тканей. Пептиды, в которых остаток дегидрофенилаланина находится в середине пептидной цепи, могут быть получены [281] в том случае, если расщепление кольца соответствующего азлактона (CV) проводить в присутствии натриевой соли глицина; полученный при этом хлорацетилдегидрофенилаланилглицин (CVIII) взаимодействием с аммиаком превращают затем в глицилдегидрофенилаланилглицин (CIX). Другие методы синтеза аналогичных дегидропептидов основаны на конденсации амидов или нитрилов с α-кетокислотами (раздел 9).

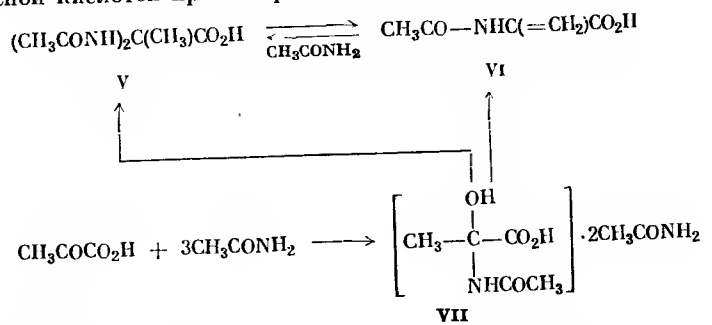
Оценка метода. Хотя использование азлактонного метода создало возможность синтеза целого ряда сложных пептидов, которые не были доступны на основе ранних методов Фишера и его современников, тем не менее полученные результаты, вообще говоря, нельзя было считать удовлетворительными. В частности, удаление N-ацетильной группы действием горячей кислоты сопровождалось расщеплением молекулы пептида и, что еще более существенно, создание N-концевого аминокислотного остатка в соответствующем пептиде неизбежно приводило к рацемическому соединению или смеси эпимеров. В некоторых особых случаях можно было достигнуть фракционного разделения диастереоизомеров путем трудоемких операций, напоминающих ранние методы Фишера. Иногда удается выделить лишь ненужный стереоизомер; такой случай имел место с описанными выше пептидами, содержащими остаток аргинина, когда при синтезе DL-фенилаланил-L-аргинина (или DL-тирозил-L-аргинина) удалось выделить только неприродный D-L-стереоизомер. Однако в настоящее время азлактонный метод приобрел значение как один из путей получения дегидропептидов, широко используемых при изучении специфичности энзимов.

9. Свойства дегидропептидов и их получение путем конденсации амидов или нитрилов с α-кетокислотами. *Принцип.* Для получения низших дегидропептидов (I) наряду с азлактонным методом предложен также метод, заключающийся в непосредственной термической конденсации эквимолекулярных количеств α-кетокислоты (III) и амида алифатической кислоты (II) или в обработке α-кетокислоты (III) нитрилом (II) в присутствии хлористого водорода. Если первая из указанных реакций протекает путем конденсации двух молекул амида с одной молекулой α-кетокислоты, то образуется α,α-ди-(ациламино)-кислота (IV). Последняя может быть также получена обработкой α-кетокислоты избытком нитрила в растворе серной кислоты (реакция Бёттингера). Нагревание соединения IV с ледяной уксусной кислотой в определенных условиях приводит к частичному деацилированию с одновременным образованием соответствующего дегидропептида (I).

С другой стороны, при контролируемом кислотном гидролизе пептидов, образующихся при конденсации кислоты IV с каким-либо аминокомпонентом, получаются соответствующие пептиды α-кетокислоты.

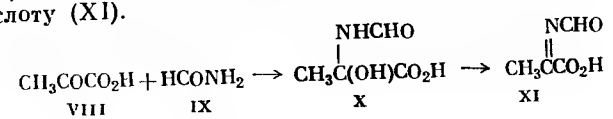


Конденсация амидов с α-кетокислотами. В 1930 г. Бергманом и Графе [315] было показано, что при нагревании смеси ацетамида (II; R = CH_3) с пировиноградной кислотой (III; R′ = H) при пониженном давлении получается смесь α, α-ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты (IV; R = CH_3; R′ = H) и α-ацетаминоакриловой кислоты (I; R = CH_3; R′ = H). Образование первого или второго из этих соединений зависит от того, вступает ли в реакцию конденсации с пировиноградной кислотой одна или две молекулы амида. Полученная смесь кислот (I и IV) может быть легко разделена путем дробной кристаллизации из этилацетата. Дегидропептид (VI) может быть получен также обработкой чистой ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты (V) ледяной уксусной кислотой при нагревании.



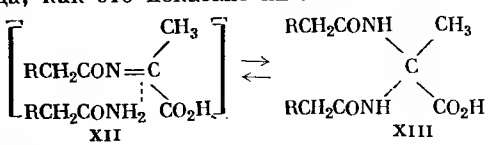
Впоследствии Шемин и Хербст [316] установили, что последняя реакция является обратимой. Они получили диацетаминопропионовую кислоту (V) путем нагревания смеси α-ацетаминоакриловой кислоты (VI) и ацетамида. Реакция между ацетамидом и пировиноградной кислотой была позднее изучена Хебстом [317], который показал, что первой стадией конденсации является, по-видимому, образование комплекса VII, построенного из одной молекулы α-окси-α-ацетаминопропионовой кислоты и двух молекул ацетамида. При нагревании в вакууме этот комплекс претерпевает разложение с одновременным образованием указанных ранее соединений (V и VI).

Амиды других кислот также способны к аналогичной термической конденсации с пировиноградной кислотой, что было впоследствии показано многими исследователями, в частности: Бергманом и Графе [315], получившими смесь хлорацетаминоакриловой кислоты (I; R = $ClCH_2$, R′ = H) и α,α-ди-(хлорацетамино)-пропионовой кислоты (IV; R = $ClCH_2$, R′ = H) из хлорацетамида (II; R = $ClCH_2$) и пировиноградной кислоты; Николе [318], получившим смесь α,α-ди-(бензоиламино)-пропионовой кислоты (IV; R = C_6H_5, R′ = H) и α-бензоиламиноакриловой кислоты (I; R = C_6H_5, R′ = H) из бензамида (II; R = C_6H_5) и пировиноградной кислоты, а также Мартеллом и Хербстом [319], которые синтезировали целый ряд карбобензоксипроизводных дегидропептидов путем взаимодействия бензилкарбамата (II; R = $C_6H_5CH_2O$) с различными карбонилсодержащими соединениями. При аналогичной конденсации пировиноградной кислоты с формамидом (IX) Шайв В. и Шайв Г. [320] получили α-окси-α-формаминопропионовую кислоту (X), которая при разложении превращалась в α-формиминопропионовую кислоту (XI).

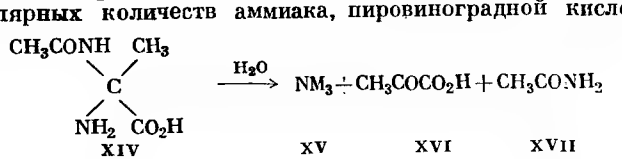


По мнению Мартелла и Хербста [319], взаимодействие амида с кетокислотой протекает путем первоначального присоединения амида к карбонильной группе с последующим а) прямым замещением гидроксила вторым остатком амида (см. VII) и образованием ди-(ациламино)-пропионовой кислоты или б) элиминированием молекулы воды с образованием промежуточных ненасыщенных соединений (ацилированных α-аминоакриловых кислот), которые в соответствующих условиях способны присоединять вторую молекулу амида. Хотя Шемину и Хербсту [316] на примере пировиноградной кислоты, взятой в качестве кетокислотного компонента, удалось показать, что реакции такого типа являются обратимыми, в случае фенилпировиноградной кислоты (III; $R' = C_6H_5$) эти наблюдения не подтвердились, поскольку ацетамид не конденсировался с ацетаминокоричной кислотой (I; $R = CH_3$; $R' = C_6H_5$). Такое резкое различие в поведении указанных кислот объяснялось [319] тем, что фенильная группа в производных аминокоричной кислоты обусловливает ярко выраженную тенденцию к сохранению двойной связи боковой цепи в положении, сопряженном с ароматическим кольцом, и тем самым препятствует таутомерному сдвигу двойной связи к азоту. Так, хотя ди-(ациламино)-фенилпропионовая кислота (IV; $R' = C_6H_5$) может быть легко получена при нагревании двух молекул амида (II) с одной молекулой фенилпировиноградной кислоты (III; $R' = C_6H_5$) [319], а ацетаминокоричная кислота (I; $R' = C_6H_5$)— при нагревании эквивалентных количеств ацетамида (II) и фенилпировиноградной кислоты (III; $R' = C_6H_5$) [316], синтез ди-(ациламино)-фенилпропионовых кислот путем конденсации ациламинокоричных кислот с амидами, по-видимому, представляет собой более сложную задачу. Поэтому представляется вполне вероятным, что для этого класса соединений предпочтительным является ранее описанный механизм типа «а», тогда как механизм типа «б» может иметь силу для производных пировиноградной кислоты.

Легкость образования ациламиноакриловых кислот (дегидропептидов) из соответствующих ди-(ациламино)-пропионовых кислот является веским доводом в пользу того, что один из амидных остатков ди-(ациламино)-пропионовых кислот способен относительно легко отщепляться в определенных условиях. Другими словами, ди-(ациламино)-пропионовые кислоты можно, по всей вероятности, рассматривать как ациламиноакриловые кислоты, к двойной связи которых с той или иной степенью прочности привязан остаток амида, как это показано ниже на схеме.



Хотя ди-(ациламино)-пропионовые кислоты в водном растворе при обычных условиях вполне устойчивы, отщепление одной из ацильных групп приводит к образованию соединений со свободной аминогруппой, например α-ацетамино-α-аминопропионовой кислоты (XIV) [321], которая крайне неустойчива в водном растворе и спонтанно разлагается с образованием эквимолекулярных количеств аммиака, пировиноградной кислоты и ацет-



амида (рис. 22). Скорость разложения заметно возрастает в присутствии водного экстракта почек крысы [322].

Синтез Бёттингера. Большие количества чистых ди-(ациламино)-пропионовых кислот, без примеси соответствующих ациламиноакриловых кислот, могут быть получены [322] с помощью реакции, впервые описанной в 1881 г. Бёттингером [323]. Реакцию проводят путем добавления избытка нитрила к пировиноградной кислоте, растворенной в сильно охлажденной концентрированной серной кислоте. Затем смесь выливают на измельченный лед и в результате с хорошим выходом выделяют соответствующую

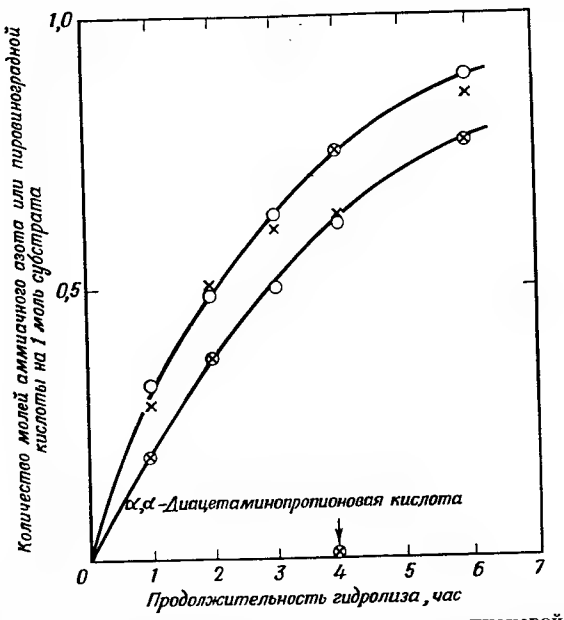


Рис. 22. Самопроизвольный гидролиз α-ацетамино-α-аминопропионовой кислоты при 37° с образованием эквимолекулярных количеств аммиака и пировиноградной кислоты [322].
Верхняя кривая с экстрактом почек крысы; нижняя кривая—в воде.
× аммиачный азот; ○ пировиноградная кислота.

ди-(ациламино)-пропионовую кислоту. Таким путем в кристаллическом виде были получены значительные количества ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты [326], ди-(хлорацетамино)-пропионовой кислоты [322] и ряда других алифатических α,α-ди-(ациламино)-кислот [324, 325] (табл. 63).

Синтез Бёттингера можно рассматривать как процесс, протекающий в основном в две стадии: 1) конденсация нитрила (XVIII) с кетокислотой (XIX) с образованием соответствующего дегидропептида (XX) и 2) присоединение амида (в момент его образования из второй молекулы нитрила и воды) к дегидропептиду по двойной связи, приводящее к образованию α,α-ди-(ациламино)-кислоты (XXI). Примером синтеза Бёттингера может служить получение α,α-ди-(хлорацетамино)-пропионовой кислоты (XXI) (методика 12).

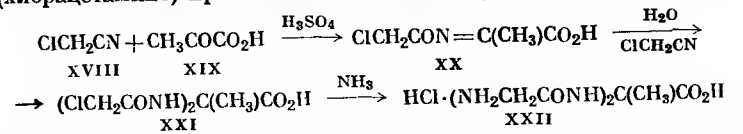


Таблица 63

α,α-Ди-(ациламино)-кислоты, синтезированные по Бёттингеру, и продукты их аминолиза

α,α-Ди-(ациламино)-кислота	Т. пл., °С	Продукт аминолиза	Т. пл., °С	Литература
Ди-(ацетамино)-пропионовая	—	—	—	326
Ди-(акриламино)-пропионовая	154—155	—	—	325
Ди-(β-бромпропиониламино)-пропионовая	136—137	—	—	325
α-Хлорацетамино-α-ацетаминопропионовая	176	α-Глициламино-α-ацетаминопропионовая кислота	—	325
Ди-(хлорацетамино)-масляная	169—170	Ди-(глициламино)-масляная кислота [a]	206 (с разл.)	325
Ди-(хлорацетамино)-*н*-капроновая	140—141	Ди-(глициламино)-*н*-капроновая кислота [a]	206—207 (с разл.)	325
Ди-(хлорацетамино)-изокапроновая	134	Ди-(глициламино)-изокапроновая кислота [a]	237 (с разл.)	325
Ди-(хлорацетамино)-пропионовая	201	Ди-(глициламино)-пропионовая кислота [a]	199 (с разл.)	322
		Ди-(N-метилглициламино)-пропионовая кислота [a]	215 (с разл.)	327
		Ди-(N-диметилглициламино)-пропионовая кислота [a]	219 (с разл.)	327
Ди-(хлорацетамино)-*н*-валериановая	140	Ди-(глициламино)-*н*-валериановая кислота [a]	234 (с разл.)	325
Ди-(хлорацетилглициламино)-пропионовая	98	Ди-(глицилглициламино)-пропионовая кислота [a]	164 (с разл.)	327
Ди-(γ-хлорбутиридамино)-пропионовая	112—115	—	—	325
Ди-(DL-хлорпропиониламино)-пропионовая	185	α-DL-Аланиламино-α-DL-хлорпропиониламинопропионовая кислота	207 (с разл.)	324
		Ди-(DL-аланиламино)-пропионовая кислота [a]	196 (с разл.)	324
Ди-(β-хлорпропиониламино)-пропионовая	126—127	—	—	325

[a] В виде монохлоргидрата.

При взаимодействии α,α-ди-(хлорацетамино)-пропионовой кислоты (XXI) с водным раствором аммиака образуется хлоргидрат α,α-ди-(глициламино)-пропионовой кислоты (XXII), который в водном растворе вполне устойчив и имеет нейтральную реакцию. Известны также аналогичные реакции между α-хлорацетонитрилом и различными α-кетокислотами [325, 327] или DL-α-хлорпропионитрилом и пировиноградной кислотой [324] (см. табл. 63).

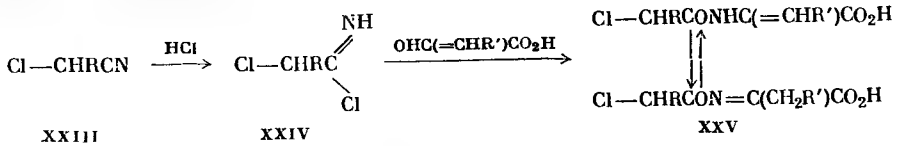
Типичная методика 12 [322]. α,α-Ди-(хлорацетамино)-пропионовая кислота (XXI). 60 *г* свежеперегнанной пировиноградной кислоты растворяют в 500 *мл* охлажденной концентрированной серной кислоты и к полученному раствору при охлаждении смесью соли со льдом и перемешивании медленно прибавляют 100 *г* перегнанного хлорацетонитрила с такой скоростью, чтобы температура не поднималась выше 15°. К концу прибавления нитрила (на это требуется около 2 *час*) раствор становится очень вязким; при энергичном перемешивании его осторожно выливают в смесь измельченного льда с водой (4 *л*), причем почти сразу выпадает белый осадок. После того как лед растает, осадок отфильтровывают, промывают несколько раз ледяной водой и дважды перекристаллизовывают из горячей воды. Продукт реакции выпадает в виде больших блестящих призм; выход 33% (считая на введенный в реакцию хлорацетонитрил), т. пл. 201°. Аналогичная методика может быть, в сущности, использована для получения целого ряда других α,α-ди-(ациламино)-кислот (см. табл. 63).

Монохлоргидрат α,α-ди-(глициламино)-пропионовой кислоты (XXII). 20 *г* полученной ди-(хлорацетамино)-пропионовой кислоты растворяют в 200 *мл* 28%-ного водного раствора аммиака и реакционную смесь выдерживают при 37° в течение 36 *час*. Затем раствор упаривают при 35° в вакууме до образования бесцветного сиропообразного остатка: последний растворяют в 50 *мл* воды и к полученному раствору добавляют 200 *мл* абсолютного спирта. При этом хлоргидрат выпадает в виде масла, которое быстро затвердевает. Указанную операцию повторяют еще трижды; в результате хлоргидрат пептида выпадает в виде белого осадка, который отфильтровывают, промывают сначала спиртом, а затем эфиром и, наконец, высушивают над P_2O_5. Выход составляет 60 *г* (80% теории); т. пл. 199° (с разложением).

Поскольку α,α-ди-(ациламино)-кислоты весьма родственны дегидропептидам, было также изучено отношение этих кислот к энзиматическому расщеплению. Было найдено, что некоторые из такого рода соединений, например ди-(глициламино)-пропионовая кислота, очень чувствительны к энзиматическому гидролизу животными тканями, а поэтому возможно, что механизм такого расщепления включает в себя стадию образования промежуточного дегидропептида.

Конденсация нитрилов с α-кетокислотами. Относительно простой метод синтеза некоторых дегидропептидов основан на использовании реакции между нитрилом (XXIII) и α-кетокислотой [328, 329]. Насыщение смеси этих соединений сухим хлористым водородом довольно быстро приводит к почти количественному образованию желаемого дегидропептида (XXV) высокой степени чистоты. По имеющимся наблюдениям, эта реакция ограничена использованием α-галогензамещенных нитрилов; ацетонитрил в указанных условиях не реагирует с пировиноградной кислотой. В сущности, можно считать, что реакция между нитрилом и α-кетокислотой протекает путем первоначального образования иминохлорида амида (XXIV), который далее реагирует с енольной формой кетокислоты. Указанным методом было синтезировано большое число α-галогенацилдегидроаминокислот (ме-

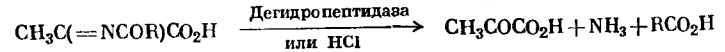
тодика 13), из которых путем аминирования водным раствором аммиака могут быть получены соответствующие α-аминоацилдегидроаминокислоты [328—331] (табл. 64).



Типичная методика 13 [329]. Хлорацетилдегидроалаиин (XXV; R = = R′ = H). Охлажденную смесь 7,6 *г* свежеперегнанного хлорацетонитрила и 10,6 *г* свежеперегнанной пировиноградной кислоты насыщают сухим хлористым водородом и затем оставляют на 1 *час* при 5°; при этом образуется кристаллическая масса, представляющая собой почти чистый хлорацетилдегидроаланин. Смесь выдерживают при 0° еще 12 *час*, осадок отфильтровывают на воронке Бюхнера и промывают на фильтре сухим эфиром. Выход 14 *г* (86% теории), т. пл. 156°. После перекристаллизации из ацетона температура плавления повышается до 162°. Указанная общая методика применима для синтеза всех α-галогенацилдегидроаминокислот, перечисленных в табл. 64. Аминирование водным раствором аммиака, согласно методике 12, приводит к образованию соответствующей α-аминоацилдегидроаминокислоты.

Показанные на схеме превращения XXIII → XXV аиалогичны синтезу ди-(ациламино)-пропионовых кислот по Бёттингеру (XVIII—XXI). В первом случае берут избыток кетокислоты, причем реакцию проводят без доступа влаги, а в случае синтеза Бёттингера используют избыток нитрила и реакцию ведут в присутствии воды, которая необходима для присоединения второго остатка амида к молекуле дегидропепетида.

Пирувилпептиды. При полном кислотном или энзиматическом гидролизе дипептидов α-аминоакриловой кислоты (XXVI) наряду с другими продуктами реакции образуются аммиак и пировиноградная кислота.



Аналогичным образом контролируемый гидролиз ацильного остатка трипептидов, содержащих остаток дегидроаланина в середине пептидной цепи, приводит к образованию пирувилпептидов. Так, Бергманом и Графе [287] было показано, что α,α-ди-(ацетамино)-пропионилглицин (XXXIV) [синтезированный путем взаимодействия глицина с азлактоном

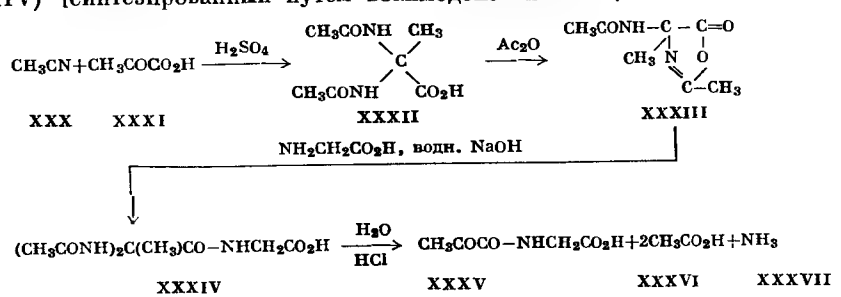


Таблица 64

Дегидропептиды, полученные путем катализируемой хлористым водородом конденсации нитрилов с α-кетокислотами и продукты их аминолиза

Реагенты		Продукт конденсации	Продукт аминирования [в]	Литература
α-Кетокислота	нитрил			
α-Кетомасляная	Хлорацетонитрил	Хлорацетилдегидробутирин	Глицилдегидробутирин	332
α-Кето-*н*-капроновая	»	Хлорацетилдегидронорлейцин	Глицилдегидронорлейцин	332
α-Кетоизокапроновая	»	Хлорацетилдегидролейцин	Глицилдегидролейцин	331
α-Кетоизовалериановая	»	Хлорацетилдегидровалин	Глицилдегидровалин	331
α-Кето-β-метилвалериановая	»	Хлорацетилдегидроизолейцин	Глицилдегидроизолейцин	331
α-Кето-*н*-валериановая	»	Хлорацетилдегидронорвалин	Глицилдегидронорвалин	332
Пировиноградная	»	Хлорацетилдегидроалаиин	Глицилдегидроалаиин	328, 329
			Саркозилдегидроалаиин [г]	329
		Хлорацетилглицилдегидроалаиин [а]	Глицилглицилдегидроалаиин	329, 333
		Хлорацетилсаркозилдегидроалаиин [б]	Глицилсаркозилдегидроалаиин	329, 330
Пировиноградная	α-Хлорпропионилнитрил	DL-α-Хлорпропионилдегидроалаиин	DL-Аланилдегидроалаиин	329

а Получен хлорацетилированием глицилдегидроаланина.

б Получен хлорацетилированием саркозилдегидроаланина.

в Эти соединения получены в чистом виде. Продукты же конденсации содержали примесь хлорацетамида и поэтому их точки плавления не указаны; при аминолизе хлорацетамид превращается в растворимый в спирте глицинамид, который легко отделяется от нерастворимых в спирте пептидов.

г Получен обработкой хлорацетилдегидроаланина метиламином.

α,α-ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты XXXIII] при обработке его соляной кислотой (при нагревании) превращается в пирувилглицин (XXXV), уксусную кислоту и аммиак (методика 14). Аналогично этому Фрутон и Бергман [334] наблюдали образование фенилпирувилглицина из α-ацетаминоциннамоилглицина и, кроме того, показали, что α-кетопептиды последнего типа очень чувствительны к действию кристаллической карбоксипептидазы.

Типичная методика 14. α,α-Ди-(ацетамино)-пропионовая кислота (XXXII) [323, 326]. К 400 *мл* концентрированной серной кислоты, охлажденной до 10°, добавляют 77 *г* пировиноградной кислоты (XXXI) и при хорошем перемешивании к раствору медленно прибавляют 100 *г* ацетонитрила (XXX) с такой скоростью, чтобы температура не поднималась выше 50°. Для завершения реакции необходимо около 1 *час*, после чего смесь охлаждают до 10° и выливают на 4 *л* тонкоизмельченного льда; реакционную смесь сильно охлаждают и при этом происходит кристаллизация продукта реакции. После того как лед растает, осадок отфильтровывают и тщательно промывают холодной водой. После перекристаллизации из спирта выход чистой ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты (XXXII) составляет 70—80%, т. пл. 189—190° с разложением (исправленная).

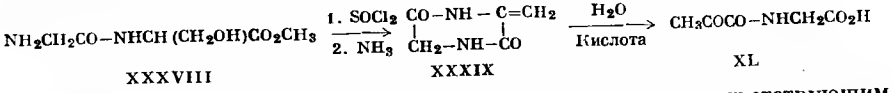
Азлактон α,α-ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты (XXXIII) [287]. Смесь 38 *г* α,α-ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты и 250 *мл* уксусного ангидрида нагревают на кипящей водяной бане до полного растворения (около 2,5 *час*). Затем раствор упаривают в вакууме досуха (без доступа влаги) и слегка желтоватый кристаллический остаток перекристаллизовывают из сухого этилацетата. Выход после переработки маточных растворов составляет 85—90% теории, т. пл. 152° (исправленная).

α,α-Ди-(ацетамино)-пропионилглицин (XXXIV) [287]. Суспензию 8,6 *г* (0,05 моля) азлактона ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты (XXXIII) в 75 *мл* ацетона добавляют при охлаждении холодной водой к раствору 3,8 *г* (0,05 моля) глицина в 50 *мл* 1 н. раствора NaOH. Через 10 *мин* к прозрачному раствору добавляют 50 *мл* 1 н. раствора серной кислоты и полученную смесь без отделения выпавшего осадка упаривают в вакууме досуха. Остаток экстрагируют кипящим этанолом (4 × 50 *мл*), и при охлаждении объединенного экстракта выпадает осадок 12,5 *г* ди-(ацетамино)-пропионилглицина (XXXIV); из маточного раствора можно выделить еще 1,2 *г* того же вещества. Общий выход составляет 95% теории; продукт реакции содержит 1 молекулу кристаллизационного спирта. Полученный пептид может быть перекристаллизован из этанола; т. пл. 215° с разложением (исправленная).

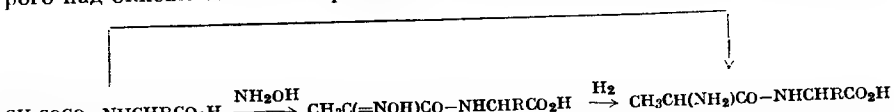
Пирувилглицин (XXXV) [287]. Раствор 10 *г* ди-(ацетамино)-пропионилглицина (XXXIV) в 125 *мл* 1 н. соляной кислоты осторожно кипятят в течение 30 *мин*, поддерживая температуру масляной бани при 115°. Смесь выпаривают в вакууме при 40—50° досуха, затем разбавляют водой и снова выпаривают, после чего остаток тщательно экстрагируют эфиром. Объединенный эфирный экстракт высушивают и концентрируют; остаток растворяют в сухом эфире при нагревании и осторожно осаждают пирувилглицин (XXXV) путем постепенного добавления петролейного эфира. Выход 2,5 *г* (50% теории), т. пл. 90°. Проведение гидролиза требует особой тщательности, поскольку при несоблюдении указанных условий реакции может происходить дальнейшее расщепление пептида (XXXV), приводящее к образованию пировиноградной кислоты.

Пептиды кетокислот могут быть также получены методом с использованием соединений типа 3-метилен-2,5-дикетопиперазина (XXXIX), который

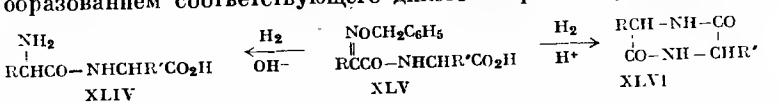
в сущности является циклическим ангидридом α-аминоакриловой кислоты и глицина. Синтез дикетопиперазина (XXXIX) осуществлен путем последовательной обработки метилового эфира глицилсерина (XXXVIII) вначале тионилхлоридом, а затем водным раствором аммиака [309]. При гидролизе соединения (XXXIX) минеральной кислотой в мягких условиях происходит расщепление дикетопиперазинового кольца с одновременным образованием пирувилглицина (XL) [310].



Аналогичная реакция была успешно осуществлена с соответствующим ангидридом ангидроаланилсерина (3-метилен-6-метил-2,5-дикетопиперазином) [310]. Интересно отметить, что по данным Хербста [335], пирувилпептиды путем каталитического гидрирования в присутствии аммиака могут быть превращены в соответствующие насыщенные пептиды; так, например, из пирувилглицина (XLI; R = H) был получен DL-аланилглицин (XLIII; R = H). Предложен также другой вариант этого метода [316], заключающийся в первоначальном превращении пирувиламинокислоты в соответствующий оксим (XLII), последующее каталитическое гидрирование которого над окисью платины приводит к соответствующему дипептиду (XLIII).



Таким путем пирувилглицин (XLI; R = H) был превращен в DL-аланилглицин (XLIII; R = H), а пирувил-DL-аланин (XLI; R = CH_3) — в DL-аланил-DL-аланин (XLIII; R = CH_3). Аналогичная реакция в случае пирувил-DL-фенилаланина (XLI; R = $C_6H_5CH_2$) сопровождалась восстановлением ароматического кольца и привела к образованию DL-аланил-DL-циклогексилаланина (XLIII; R = $C_6H_{11}CH_3$). Хартунгом и его сотрудниками [336, 337] был предложен аналогичный метод, заключающийся в каталитическом восстановлении в щелочной среде различных N-бензил- или N-алкилоксиминоациламинокислот (XLV) или их эфиров до соответствующих дипептидов (XLIV); восстановление в кислой среде протекает с преимущественным образованием соответствующего дикетопиперазина (XLVI).



Здесь необходимо рассмотреть также некоторые различия в химическом поведении пирувил- и фенилпирувилпептидов. Так, было установлено [338], что пирувилглицин (pK' 3,3 при 25°) легко образует кристаллический динитрофенилгидразон, под действием соляной кислоты при нагревании количественно расщепляется до пировиноградной кислоты и глицина и при pH <10 дает весьма характеристический ультрафиолетовый спектр поглощения с максимумами при 240 и 340 *ммк* соответственно. Однако при pH среды >10 в водных растворах образования динитрофенилгидразона не наблюдается, при обработке пирувилглицина горячей соляной кислотой не удается выделить ни пировиноградной кислоты, ни глицина, а максимумы поглощения в ультрафиолетовой области полностью исчезают; при подкислении

раствора первоначальные свойства пирувилглицина не восстанавливаются. Тем не менее значение pK' при 25° и содержание азота в выделенном соединении полностью соответствовали пирувилглицину. При последующем изучении [339] ультрафиолетовых спектров поглощения водных растворов фенилпировиноградной кислоты и фенилпирувилглицина при pH 7,8 были обнаружены максимумы поглощения при 285 и 250 *ммк*, соответствующие первому и второму соединению. При доведении pH этих растворов до 11,5 происходит немедленное изменение УФ-спектров, и в случае обоих соединений появляется отчетливый максимум при 325 *ммк*. Однако при доведении pH раствора до 7,0 вновь обнаруживаются первоначальные УФ-спектры обоих соединений. Таким образом, в то время как подщелачивание растворов пировиноградной кислоты, фенилпировиноградной кислоты и фенилпирувилглицина приводит к обратимым превращениям [339], в случае пирувилглицина такие превращения оказываются необратимыми [338, 340].

При распространении указанных исследований на N-пирувильные производные α-аминоизомасляной кислоты, DL-аланина и DL-фенилаланина было обнаружено, что в водном растворе все эти соединения имеют одинаковые спектры поглощения с максимумами в области 243—245 *ммк* и 310—337 *ммк* [341]. При подщелачивании растворов двух последних соединений характерные для них полосы поглощения в УФ-спектре полностью исчезают и не появляются вновь при подкислении растворов; такое поведение напоминает поведение пирувилглицина [338, 340]. Напротив, оказалось, что при аналогичном подщелачивании раствора пирувил-α-аминоизомасляной кислоты ее УФ-спектр изменяется лишь в незначительной степени и, с другой стороны, полностью восстанавливается после подкисления раствора [341]. Такое различие в поведении указанных соединений первоначально объяснялось тем, что N-пирувильные производные глицина, аланина и фенилаланина в щелочных растворах претерпевают необратимую циклизацию в соответствующие производные γ-оксипирролидонкарбоновой кислоты благодаря наличию в соответствующих аминокислотных остатках α-водородного атома, тогда как отсутствие такого водородного атома в случае пирувил-α-аминоизомасляной кислоты делает невозможной аналогичную циклизацию. Однако более поздние работы, проведенные в лаборатории автора, показали необходимость пересмотра такой точки зрения.

При обработке пирувилглицина щелочью при 25° и последующем подкислении раствора было выделено кристаллическое вещество, которое по эмпирическому составу соответствовало пирувилглицину, однако обладало другим строением [340]. Сравнение хроматографических характеристик и ИК-спектров полученного соединения и двух стереоизомерных рацемических γ-оксипирролидон-α-карбоновых кислот, полученных циклизацией соответствующих рацематов γ-оксиглутаминовой кислоты, также подтвердило, что полученное вещество не идентично ни одному из взятых для сравнения соединений. (Детальное описание рассмотренных реакций и образующихся при этом соединений приведено в книге [1057], т. 3, гл. 43.)

Ультрафиолетовые спектры поглощения дегидропептидов. Поскольку можно было предполагать, что дегидропептиды существуют в водном растворе в виде нескольких таутомерных форм, находящихся в равновесии между собой, то следовало ожидать, что при изучении их спектров поглощения в ультрафиолетовой области будут обнаружены некоторые характерные особенности; проведенные опыты показали, что такая связь в действительности имеет место. Так, было установлено, что алифатические дегидропептиды имеют характерный спектр поглощения с максимумом при 240 *мμ*

[342] (рис. 23), тогда как форма кривой поглощения ацилированных пептидов α-аминоакриловой кислоты практически не зависит от природы ацильного остатка [343]. В противоположность весьма характеристическому спектру поглощения ацетилдегидроаланина кривые абсорбции ацетилдегидроаминомасляной кислоты, ацетилдегидровалина и ацетилдегидролейцина не имеют

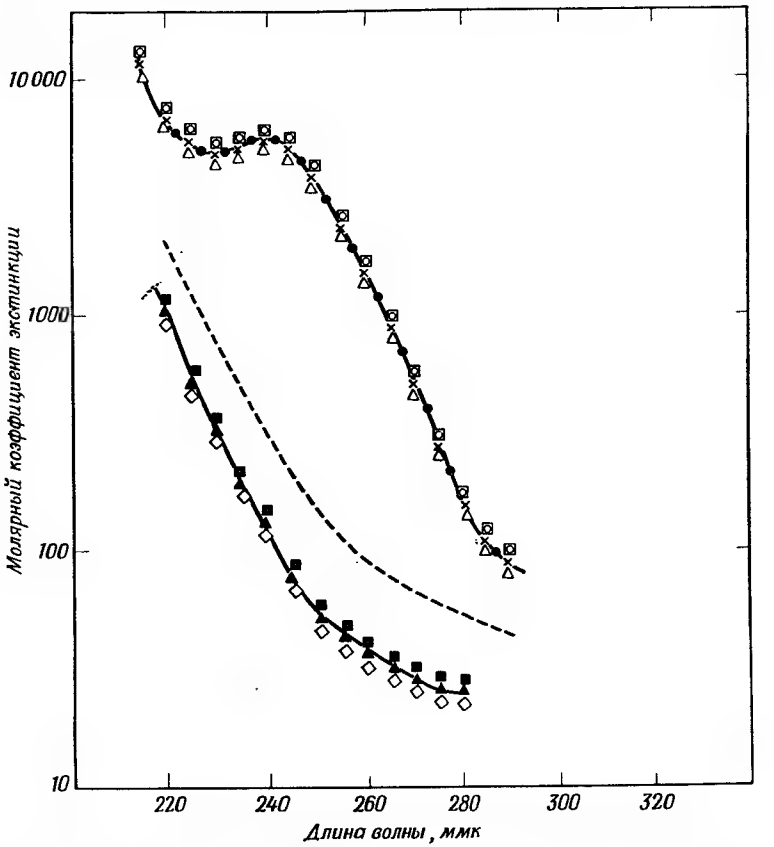


Рис. 23. Кривые поглощения в ультрафиолетовой области пептидов и дегидропептидов аланина при pH 7,0 [329].

× ацетилдегидроаланин; ○ хлорацетилдегидроаланин; ● глицилдегидроаланин; △ α-хлорпропионилдегидроаланин; □ аланилдегидроаланин; — — — пировиноградная кислота; ▲ ацетилаланин; ■ хлорацетилаланин; ◇ глицилаланин.

характеристических максимумов [344, 345]. С другой стороны, было обнаружено, что насыщенные аналоги дегидропептидов обладают в ультрафиолетовой области лишь малохарактерным и весьма незначительным поглощением.

Форма кривых поглощения ацилированных пептидов α-аминофенилакриловой кислоты в УФ-области заметно отличалась от формы кривых, характерной для алифатических дегидропептидов (рис. 24). Так, кривые поглощения ароматических дегидропептидов обладают минимумом при 240 *ммк* и максимумом при 275 *ммк* и, как правило, очень сходны по своей форме с кривыми

поглощения насыщенных аналогов фенилированных аминокислот (рис. 24), однако величина поглощения дегидропептидов значительно больше и максимум поглощения сдвинут с 260 до 275 *ммк*. Наличие в такого рода дегидропептидах двойной связи, сопряженной с фенильным ядром, по всей вероятности, является причиной резкого возрастания поглощения в ультрафиолетовой области, характеризующего свойства всей молекулы в целом. Установлено, что форма кривых поглощения ароматических дегидропептидов, как и в случае алифатических дегидропептидов, существенно зависит от природы ацильного остатка [329]. Кривые поглощения в ультрафиолетовой области для ацетилдегидротирозина при двух значениях pH были сняты Фрутоном, Симмондсом и Смитом [344] (рис. 25).

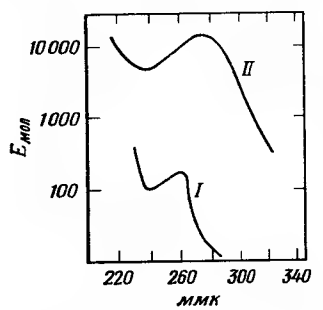


Рис. 24. Кривые поглощения в ультрафиолетовой области пептидов при pH 7,0 [349].
I — пептид фенилаланина; *II* — пептид дегидрофенилаланина.

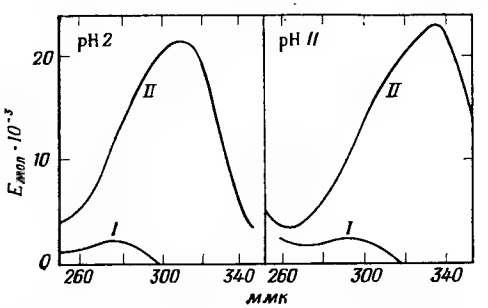


Рис. 25. Кривые поглощения в ультрафиолетовой области в кислом (pH 2) и щелочном (pH 11) растворах [344].
I — ацилтирозин; *II* — ацетилдегидротирозин.

Ненасыщенный характер дегидропептидов. Ненасыщенная природа дегидропептидов отчетливо проявляется, в частности, в их склонности к некоторым реакциям присоединения, таким, как обесцвечивание брома и перманганата [272, 346], присоединение водорода при каталитическом гидрировании [272], присоединение меркаптанов [347], амидов [316] и аминов [329, 346, 348]. Однако степень легкости и характер присоединения указанных реагентов могут изменяться в широких пределах. Так, хотя пептиды дегидроаланина и дегидрофенилаланина с одинаковой легкостью присоединяют активированный катализатором водород и меркаптаны, ацетамид, напротив, легко присоединяется к ацетилдегидроаланину, но не присоединяется к ацетилдегидрофенилаланину [316]. В то время как ацетилдегидроаланин легко и количественно реагирует с бромом [346] и с аминами [329, 346], ацетилдегидровалин реагирует с бромом лишь в незначительной степени и не реагирует с аминами, а ацетилдегидрофенилаланин вообще не реагирует ни с бромом, ни с аминами [346]. Более того, меркаптаны [346, 349] и амины [329] присоединяются к ацетилдегидроаланину с образованием α-ациламино-β-алкилмеркаптопропионовых кислот или α-ацилаламино-β-алкиламинопропионовых кислот соответственно, тогда как присоединение ацетамида приводит главным образом к образованию α,α-ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты [316].

Одним из основных критериев при решении вопроса о том, прошла ли реакция присоединения или нет, является наличие или отсутствие изменений

характеристических полос поглощения в ультрафиолетовом спектре исходного дегидропептида [322, 329, 335, 345]. Это иллюстрируется табл. 65.

Таблица 65

Молярный коэффициент экстинкции (ε) некоторых продуктов присоединения к ацетилдегидропептидам в 80%-ном этаноле [346]

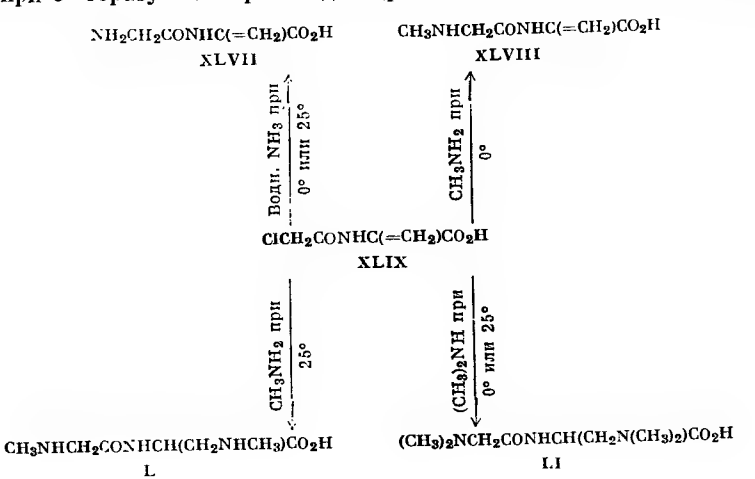
Дегидропептид [в]	Присоединяемый реагент	Длина волны, *ммк*	ε
Ацетилдегидроаланин	—	240[а]	6 050
»	Бензилмеркаптан	240	1 160[б]
»	Фенилмеркаптан	240	850[б]
»	Бензиламин	250[а]	245
»	Диметиламин	240	20
»	Метиламин	240	20[б]
Ацетилдегидрофенилаланин	—	280[а]	18 000
»	Бензилмеркаптан	280	4 400
»	Фенилмеркаптан	260[а]	4 420

[а] Максимум поглощения.

[б] Максимумы поглощения отсутствуют.

[в] Молярный коэффициент экстинкции хлорацетилдегидроаланина при максимуме поглощения в области 240 *ммк* равен 6550. Коэффициент экстинкции для продуктов присоединения (и замещения) метиламина и диметиламина, а именно хлоргидрата N-метилглицил-α-амино-β-метиламинопропионовой кислоты, равен 44; для хлоргидрата N, N-диметилглицил-α-амино-β-диметиламинопропионовой кислоты—48.

Реакции между хлорацетилдегидроаланином (XLIX) и различными аминами целесообразно рассмотреть более детально. Найдено, что обработка хлорацетилдегидроаланина водным раствором аммиака как при 0°, так и при 25° приводит к образованию глицилдегидроаланина (XLVII). Напротив, в то время как при аналогичной реакции XLIX с водным раствором метиламина при 0° образуется саркозилдегидроаланин (XLVIII), повышение тем-

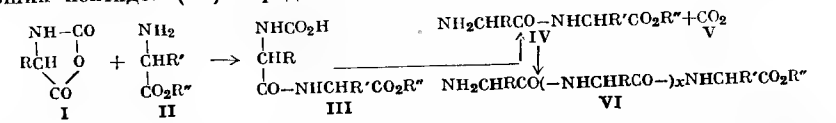


пературы реакции до 25° приводит к образованию саркозил-α-амино-β-метиламинопропионовой кислоты (L) [329]. При взаимодействии же с водным раствором диметиламина как при 0°, так и при 25° хлорацетилдегидроаланин превращается в N,N-диметилглицил-α-амино-β-диметиламинопропионовую кислоту (LI). Таким образом, метиламин и диметиламин в относительно мягких условиях способны не только вступать в реакцию замещения у α-углеродного атома хлорацетилдегидроаланина, но могут также присоединяться к двойной связи хлорацетилдегидроаланина с образованием соответствующих насыщенных пептидов.

Оценка метода. Использование реакций конденсации амидов или нитрилов с α-кетокислотами дает возможность получения дегидропептидов, причем этот метод часто является более удобным, чем азлактонный. Однако в настоящее время использование указанного пути ограничивается синтезом ряда относительно простых дегидропептидов, содержащих только одну двойную связь. Хотя конденсация нитрилов с α-кетокислотами в присутствии хлористого водорода как катализатора и представляет собой прямой и сравнительно простой метод получения ряда дегидропептидов с хорошим выходом, этот метод, по-видимому, ограничен применением только α-галогензамещенных нитрилов. В тех случаях, когда рассмотренный метод неприменим, синтез соответствующего дегидропептида лучше всего проводить путем первоначального получения соответствующей ди-(ациламино)-кислоты по методу Бёттингера с последующим избирательным ее расщеплением горячей ледяной уксусной кислотой [315, 350] (методика 15). Ди-(ациламино)-кислоты могут быть получены также путем конденсации амидов с α-кетокислотами, но обычно этот метод дает менее удовлетворительные результаты, чем синтез Бёттингера.

Типичная методика 15. Превращение α,α-ди-(ацетамино)-пропионовой кислоты в ацетаминоакриловую кислоту [315]. α,α-Ди-(ацетамино)-пропионовую кислоту (полученную по методике 14) кипятят 8 *мин* с 4-кратным объемом уксусной кислоты, затем раствор быстро охлаждают и оставляют на 1 *час* при 0°. Выпавший осадок α-ацетаминоакриловой кислоты отфильтровывают и кристаллизуют из метанола. Выход 50—60% теории, т. пл. 198—200° (с разложением, исправленная) (ср. с типичной методикой синтеза цистина [1057] гл. 24).

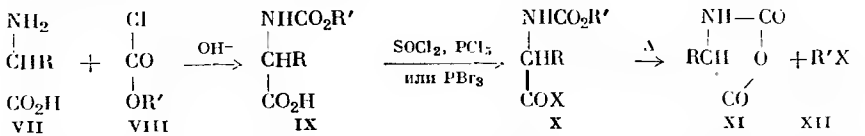
10. Метод с использованием N-карбоксиангидридов α-аминокислот. *Принцип.* 2,5-Оксазолидиндионы (I) можно рассматривать как внутримолекулярные ангидриды гипотетической карбаминовой кислоты HO_2C—$NHCHRCO_2H$. Эти соединения чаще называют N-карбоксиангидридами α-аминокислот, смешанными ангидридами аминокислот и угольной кислоты или ангидро-N-карбоксиаминокислотами, хотя часто применяется и термин «ангидриды Лёйкса» (по имени открывшего их исследователя). В 1906 г. Лёйкс [102] обнаружил, что N-карбоксиангидриды α-аминокислот в присутствии большого избытка воды быстро разлагаются с выделением двуокиси углерода и образованием соответствующей аминокислоты; при использовании же относительно небольшого количества воды вместо свободной аминокислоты образуется полимерный продукт. Эти работы были развиты Курциусом и Зибером [351], Вессели [104, 352] и позднее рядом других исследователей, которые детально изучили процесс полимеризации N-карбоксиангидридов α-аминокислот не только под влиянием воды, но и под влиянием аминов. В настоящее время принято считать, что первая стадия такого процесса полимеризации заключается в реакции N-карбоксиангидрида (I) с соответствующим инициатором, например водой, аминами или эфирами аминокислоты (II), с образованием при этом нестойкого промежуточного карбамата (III). При разложении последнего образуется соединение со свободной аминогруппой (IV), которое далее взаимодействует со второй молекулой N-карбоксиангидрида (I). Путем такого рода самопроизвольной конденсации могут быть получены полипептиды типа VI со значительным молекулярным весом, и действительно этот метод нашел широкое применение для синтеза разнообразных полимеров аминокислот. Однако указанный метод сравнительно редко использовался для контролируемого ступенчатого синтеза низших пептидов определенного состава и величины. Изучая эту проблему, Бейли [353] установил, что при тщательном регулировании условий реакции можно настолько снизить тенденцию N-карбоксиангидридов к полимеризации, что конденсация последних с эфирами или натриевыми солями аминокислот (II; R′ = алкил или Na) становится вполне применимой для синтеза низших пептидов (IV) определенного строения.



Получение N-карбоксиангидридов α-аминокислот. N-Карбоксиангидриды α-аминокислот представляют собой бесцветные кристаллические соединения, которые в чистом виде имеют резкую температуру плавления. Поскольку некоторые примеси, например влага, могут вызывать быструю полимеризацию этих соединений, то при их получении следует применять только тщательно высушенные химически чистые реагенты и растворители; все операции должны проводиться при полном отсутствии влаги, а используемая стеклянная посуда должна быть тщательно высушена путем ее нагревания в течение 2 *час* при 120—150°. Если исходная α-аминокислота содержит в боковой цепи реакционноспособную группу, такую, как гидроксильная группа серина, треонина и тирозина, α-заместитель основного характера орнитина, лизина и аргинина или ω-карбоксильная группа глутаминовой и аспарагиновой кислот, то эти функциональные группы должны быть блокированы соответствующей защитной группировкой перед образованием N-карбоксиангидрида. Чаще всего для защиты гидроксильной функции используют карбобензокси- или ацетильную группу, для защиты ω-основных функций — карбобензоксигруппу, а для защиты ω-карбоксильных групп — метиловые, этиловые или бензиловые эфиры, хотя не исключается возможность использования и других защитных группировок. Методы введения защитных групп рассмотрены в соответствующих разделах данной главы, а несколько других методов, с помощью которых α-аминокислоты подходящего строения могут быть превращены в соответствующие N-карбоксиангидриды, целесообразно рассмотреть ниже. Поскольку N-карбоксиангидриды весьма склонны к полимеризации даже в твердом состоянии при хранении в вакуум-эксикаторе, то их рекомендуется готовить лишь за несколько часов до применения.

а) Метод с использованием карбалкоксиаминокислот. Склонность хлорангидридов карбалкоксиаминокислот (X) при нагревании к внутримолекулярной циклизации, сопровождающейся образованием соответствующего N-карбоксиангидрида (XI) с одновременным элиминированием галогенного алкила (XII), была впервые отмечена Лёйксом [102] и его сотрудниками — Манассе [354] и Гейгером [355]. Эти исследования были проведены на целом ряде карбометокси- (IX, R′ = CH_3) и карбэтоксиаминокислот

(IX; R′ = C_2H_5), полученных ацилированием аминокислоты (VII) в щелочной среде с помощью метилового (VIII; R′ = CH_3) или этилового эфира хлоруглеродной кислоты (VIII; R′ = C_2H_5). При обработке карбалкоксипроизводного (IX) тионилхлоридом образуется хлорангидрид (X; X = Cl), который при нагревании в вакууме при 60—70° превращается в соответствующий N-карбоксиангидрид (XI) (методика 18). Было отмечено также, что использование в качестве исходных соединений карбометоксиаминокислот (IX; R′ = CH_3) не только дает больший общий выход, чем в случае карбэтоксиаминокислот, но к тому же позволяет проводить реакцию циклизации при более низкой температуре.



Метод Лёйкса в несколько измененной форме является в настоящее время одним из основных способов получения N-карбоксиангидридов большинства α-аминокислот. В частности, показано, что при получении промежуточного хлорангидрида иногда лучше проводить реакцию в инертном растворителе, например в эфире, используя вместо хлористого тионила пятихлористый фосфор (методика 17). Особенно перспективным оказалось широкое применение карбобензоксиаминокислот вместо соответствующих карбометокси- и карбэтоксипроизводных. Карбобензоксиаминокислоты могут быть легко получены с прекрасным выходом и высокой степенью чистоты (см. раздел 14) и, кроме того, карбобензоксигруппа, по данным Качальского и Бен-Ишай [358], гораздо легче расщепляется во время внутримолекулярной циклизации, чем карбометокси- или карбэтоксигруппа. В дальнейшем этими же исследователями [357] было показано, что бромангидриды (X; X = Br), образующиеся при действии трехбромистого фосфора на эфирный раствор карбалкоксиаминокислот (IX) при комнатной температуре, легче циклизуются в N-карбоксиангидриды (XI), чем соответствующие хлорангидриды (методика 16).

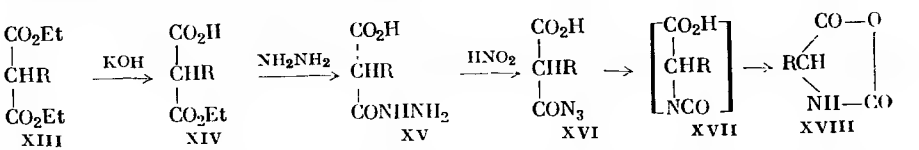
Типичная методика 16 [357]. К суспензии или раствору 0,05 моля карбобензоксиаминокислоты (методики 28—30) в 50 *мл* абсолютного эфира медленно добавляют 0,02 моля трехбромистого фосфора. Реакционную смесь оставляют на 12 *час* при комнатной температуре, добавляют 100 *мл* петролейного эфира и для ускорения кристаллизации ангидрида раствор выдерживают при 4° в течение нескольких часов. Выпавший осадок ангидрида отфильтровывают, тщательно промывают сухим петролейным эфиром и перекристаллизовывают из смеси безводного этилацетата и сухого петролейного эфира. Эта методика является общей для получения N-карбоксиангидридов из N-карбалкоксиаминокислот.

Типичная методика 17 [358]. К охлажденной до 0—5° тонкой суспензии или раствору 0,05 моля карбобензоксиаминокислоты (методики 28—30) в 75 *мл* сухого эфира, бензола или хлороформа при периодическом встряхивании и охлаждении постепенно добавляют 0,05 моля тонкоизмельченного пятихлористого фосфора. После растворения всего пятихлористого фосфора реакционную смесь фильтруют и раствор оставляют на 1 *час* при комнатной температуре. Если за это время выпадает осадок, то его отфильтровывают; в противном случае раствор выпаривают в вакууме при 40—50° досуха и операцию выпаривания повторяют еще несколько раз, каждый раз добавляя к остатку свежую порцию сухого растворителя. Затем остаток тщательно промывают сухим петролейным эфиром и перекристаллизовывают из подходящего растворителя. Все операции должны проводиться при полном отсутствии влаги.

Типичная методика 18 [102]. Смесь 5 *г* карбалкоксиаминокислоты и 25 *мл* очищенного тионилхлорида нагревают при 60° в течение 30 *мин*, предохраняя хлоркальциевой трубкой от доступа влаги. Избыток тионилхлорида отгоняют в вакууме и остаток растирают с петролейным эфиром до начала кристаллизации. Полученный N-карбоксиангидрид перекристаллизовывают из смеси сухого этилацетата с петролейным эфиром или из другой подходящей системы растворителей.

Некоторые N-карбоксиангидриды α-аминокислот, полученные одним из трех описанных выше методов, приведены в табл. 66.

б) Метод с использованием азидной перегруппировки. В 1922 г. Курциус и Зибер [351] описали получение N-карбоксиангидридов α-аминокислот с помощью классической азидной перегруппировки, открытой Курциусом многими годами раньше (ср. с работой [383]). Согласно этому методу, синтез N-карбоксиангидридов осуществляется, исходя из соответствующего малонового эфира (XIII), парциальный гидролиз которого приводит к моноэфиру (XIV), а последний под действием гидразина превращается в моногидразид (XV). При взаимодействии XV с азотистой кислотой образуется соответствующий азид (XVI), который при стоянии в течение нескольких дней при комнатной температуре или при кипячении в течение нескольких часов в сухом хлороформе или эфире превращается в соответствующий N-карбоксиангидрид (XVIII), по-видимому, путем промежуточного образования неустойчивого изоцианата (XVII):



Этот метод был использован Курциусом и его сотрудниками для синтеза многих рацемических N-карбоксиангидридов α-аминокислот; полученные ангидриды имели следующие температуры плавления: N-карбоксиангидрид α-аминомасляной кислоты — 113° (с разложением); α-аминоизоамилуксусной кислоты — 68° (с разложением); глицина — 100° (с разложением); лейцина — 48—50° (с разложением); фенилаланина — 127—128°; *м*-толилаланина — 135° и валина — 79° (с разложением).

Однако указанный метод получения N-карбоксиангидридов нельзя считать общим, поскольку он имеет ряд серьезных ограничений, из которых основными являются большое число стадий и трудоемких операций, а также трудности, встречающиеся при получении чистых промежуточных соединений на первых этапах синтеза. Поэтому в настоящее время указанный метод почти не имеет практического значения.

в) Метод с использованием фосгена. В 1922 г. Фунс [384] предложил новый путь синтеза N-карбоксиангидридов N-фенилглицина (XXII) и N-*п*-толилглицина; им было установлено, что при пропускании фосгена (XX) в охлажденный водно-щелочной раствор аминокислоты (XIX) выпадает

Таблица 66

N-Карбоксиангидриды α-аминокислот, полученные по методу Лёйкса

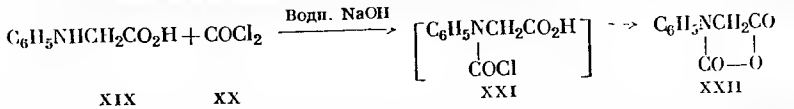
N-Карбоксиангидриды (указана соответствующая кислота)	Т. пл., °С	Исходная N-карбалкокси-α-аминокислота	Т. пл., °С	Метод получения	Литература
DL-Аланин	44—45	N-Карбэтокси-DL-аланин [208]	84	PBr_3, в эфире [а]	357
D-Аланин	89	Карбобензокси-D-аланин [359]	87	PCl_5, в эфире	359
L-Аланин	92 (с разл.)	N-Карбометокси-L-аланин [360]	Масло	$SOCl_2$	360
N-Бензил-DL-аланин	60—61	N-Карбометокси-N-бензил-DL-аланин [361]	»	$SOCl_2$	361
N-Метил-DL-аланин	75—76	N-Карбометокси-N-метил-DL-аланин [361]	»	$SOCl_2$	361
N^{ω}-*n*-Нитрокарбобензокси-L-аргинин	150—151	N^{α}, N^{ω}-Ди-*n*-нитрокарбобензокси-L-аргинин [362]	180,5—181,5	$SOCl_2$	363
β-Бензиловый эфир L-аспарагиновой кислоты	121 (с разл.)	β-Бензиловый эфир N-карбобензокси-аспарагиновой кислоты [364]	108	PCl_5, в бензоле	364
α-Аминоизомасляная кислота	100	N-Карбометокси-α-аминоизомасляная кислота [361]	158—160	$SOCl_2$	361
S-Карбобензокси-L-цистеин	75 (с разл.)	N,S-Дикарбобензокси-L-цистеин [365]	97—98	PCl_5, в бензоле	365
L-Цистин	128 (с разл.)	N,N′-Дикарбобензокси-L-цистин [б]	123	PCl_5, в диоксане	353
β-Карбобензокси-α,β-диаминопропионовая кислота	139—140 (с разл.)	N^{α},N^{β}-Дикарбобензокси-α,β-диаминопропионовая кислота [366]	150—151	PCl_5, в хлороформе	366
γ-Бензиловый эфир L-глутаминовой кислоты	96—97 (с разл.)	γ-Бензиловый эфир N-карбобензокси-L-глутаминовой кислоты [367]	76—78	PCl_5, в эфире	367
γ-Этиловый эфир L-глутаминовой кислоты	71—72 (с разл.)	γ-Этиловый эфир N-карбобензокси-L-глутаминовой кислоты [367]	87	PCl_5, в эфире [в]	367
γ-Метиловый эфир L-глутаминовой кислоты	99—100 (с разл.)	γ-Метиловый эфир N-карбобензокси-L-глутаминовой кислоты [367]	72—73	PCl_5, в эфире	367
Глицин	100 (с разл.)	N-Карбометоксиглицин [102]	95—96	$SOCl_2$	102
»	100 (с разл.)	N-Карбобензоксиглицин [128]	120	PCl_5, в эфире [г]	368
N-Фенилглицин	139—140 (с разл.)	N-Карбэтокси-N-фенилглицин [354]	Масло	$SOCl_2$ [д]	354
1′-Бензил-L-гистидин·HCl	187—189 (с разл.)	N-Карбобензокси-1′-бензил-L-гистидин [369]	216 (с разл.)	PCl_5, в диоксане	370
DL-Изолейцин	70—72	N-Карбометокси-DL-изолейцин [361]	Масло	$SOCl_2$	361
DL-Лейцин	48—50	N-Карбометокси-DL-лейцин [355]	»	$SOCl_2$	355
L-Лейцин	76—77,5	N-Карбобензокси-L-лейцин	»	PCl_5, в эфире [е]	368
L-Лейцин	77	N-Карбобензокси-L-лейцин	»	$SOCl_2$	360
DL-*трет*-Лейцин	123	N-Карбобензокси-DL-*трет*-лейцин [371]	88	PCl_5	371
DL-Норлейцин	84—86 (с разл.)	N-Карбометокси-DL-норлейцин [361]	64	PCl_5, в бензоле	361
ε-Карбобензокси-L-лизин	100 (с разл.)	α,ε-Дикарбобензокси-L-лизин [358]	150	PCl_5, в эфире [ж]	358
δ-Карбобензокси-DL-орнитин	110 (с разл.)	α,δ-Дикарбобензокси-DL-орнитин [372]	110—112	PCl_5, в бензоле	372
δ-Карбобензокси-L-орнитин	86—88	α,δ-Дикарбобензокси-L-орнитин [373]	112—114	PCl_5, в эфире	373
DL-Фенилаланин	125—126 (с разл.)	N-Карбэтокси-DL-фенилаланин [357]	76	PBr_3, в эфире [з]	357
n-Карбобензоксиамино-DL-фенилаланин	145 (с разл.)	N,N′-Дикарбобензокси-*n*-амино-DL-фенилаланин [374]	168	PBr_3, в диоксане	374
n-Нитро-DL-фенилаланин	178 (с разл.)	N-Карбобензокси-*n*-нитро-DL-фенилаланин [374]	152	PBr_3, в диоксане	374
N-Метил-DL-фенилаланин	104—105	N-Карбометокси-N-метил-DL-фенилаланин [361]	Масло	$SOCl_2$	361
DL-α-Фенилглицин	99—100 (с разл.)	N-Карбометокси-DL-α-фенилглицин [355]	87—88	$SOCl_2$	355
L-Пролин	45	N-Карбобензокси-L-пролин [375]	76—77	PCl_5, в бензоле	375
Саркозин	99—100 (с разл.)	N-Карбометоксисаркозин [376]	Масло	$SOCl_2$	376
Саркозин	99 (с разл.)	N-Карбобензоксисаркозин [357]	53—54	PBr_3, в эфире	357
O-Ацетил-DL-серин	—	O-Ацетил-N-карбобензокси-DL-серин [377]	116—118	PCl_5, в эфире	377

Продолжение табл. 66

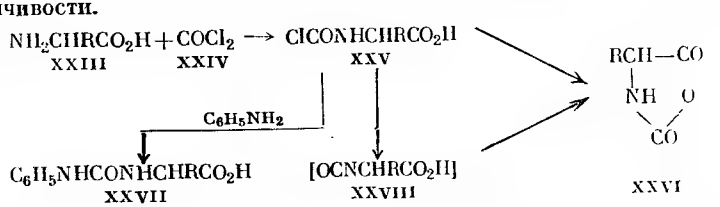
N-Карбоксиангидрид (указана соответствующая кислота)	Т. пл., °С	Исходная N-карбоксиген-α-аминокислота	Т. пл., °С	Метод получения	Литература
O-Карбобензокси-DL-серин	95 (с разл.)	O,N-Дикарбобензокси-DL-серин [377]	94	PCl_5, в эфире	377
O-Ацетил-L-тирозин	120	O-Ацетил-N-карбобензокси-L-тирозин [378]	120—121	PCl_5, в диоксане и	353
O-Карбобензокси-L-Тирозин	101 (с разл.)	O,N-Дикарбобензокси-L-тирозин [379]	117	PCl_5, в бензоле	379
DL-Валин	77—79	N-Карбэтокси-DL-валин [357]	56	PBr_3, в эфире к	357
DL-Валин	78—79	N-Карбометокси-DL-валин [361]	88—89	$SOCl_2$	361
DL-Валин	80	N-Карбобензокси-DL-валин	72—73	$SOCl_2$, в хлороформе	380

а Карбобензокси-DL-аланин, т. пл. 114—115° [128], также может быть использован в качестве исходного вещества [357].
б При взаимодействии N,N'-дикарбэтокси-L-цистина с $SOCl_2$ образуется N-карбоксиангидрид, плавящийся при 115—120° (с разл.) [381].
в γ-Этиловый эфир N-карбаллилокси-L-глутаминовой кислоты был также использован [382].
г Может быть использован также карбэтоксиглицин [368].
д При аналогичной обработке N-карбометокси-N-фенилглицина получается N-карбоксиангидрид, плавящийся при 142° (с разл.) [104].
е N-Карбоксиангидрид был получен также из N-карбометокси- и N-карбаллилоксипроизводных [368].
ж Применение PBr_3 в эфире приводит к образованию N-карбоксиангидрида, плавящегося при 99° (с разл.) [357].
з Карбобензоксипроизводное использовалось аналогичным образом [356], тогда как применение карбобензокси- или карбаллилоксипроизводных с PCl_5 в эфире приводило к образованию N-карбоксиангидрида, плавящегося при 126—128° (с разл.) [368].
и Применение смеси $SOCl_2$ и Ac_2O также привело к образованию N-карбоксиангидрида с т. пл. 119—121° [369].
к Карбобензокси-DL-валин, т. пл. 71°, был использован аналогичным образом [357].

осадок соответствующего N-карбоксиангидрида в виде тонких белых игл.



Некоторое видоизменение этого метода позволило легко и просто синтезировать большое число N-карбоксиангидридов α-аминокислот. Одна из модификаций метода заключается в непосредственном взаимодействии фосгена (XXIV), вводимого в реакционную смесь с умеренной скоростью, со свободной аминокислотой (XXIII), суспендированной в сухом диоксане, тетрагидрофуране, толуоле или другом подходящем растворителе; реакцию обычно проводят в течение нескольких часов при температуре 40—50° [385—387] (методика 19). Образование в процессе этой реакции промежуточного карбамилхлорида (XXV) было доказано получением соответствующего анилида (XXVII) при взаимодействии карбамилхлорида с анилином [387]. Последующая циклизация карбамилхлорида приводит к нужному N-карбоксиангидриду (XXVI), образующемуся при определенных условиях реакции с почти количественным выходом; единственными возможными побочными продуктами реакции являются карбамилхлорид (XXV) и образующийся из него изоцианат (XXVIII). Однако оба эти соединения обычно представляют собой жидкости и могут быть легко удалены при перекристаллизации. Необходимо подчеркнуть, что в случае указанного метода весьма существенным является применение очень чистых аминокислот, поскольку чистоту соответствующих N-карбоксиангидридов определить чрезвычайно трудно из-за их крайней неустойчивости.



Типичная методика 19 [387]. N-Карбоксиангидрид глицина. Суспензию 8 *г* тонкоизмельченного глицина в 375 *мл* сухого диоксана перемешивают в высушенной трехгорлой колбе емкостью 2 *л*, погруженной в водяную баню (температура 40°) и снабженной газоприводной трубкой, обратным холодильником и мешалкой с жидкостным затвором. Затем в реакционную смесь медленно пропускают фосген в течение 4—5 *час*; при этом глицин постепенно растворяется. После этого через раствор в течение 12 *час* при комнатной температуре пропускают ток сухого воздуха для удаления растворенных газов, мешалку и газоприводную трубку убирают, обратный холодильник заменяют на нисходящий и диоксан отгоняют в вакууме при температуре 40°; жидкий остаток кристаллизуется при дальнейшем нагревании в вакууме при 40°. Если в течение часа остаток не затвердевает, то кристаллизация может быть вызвана путем добавления небольшого количества сухого эфира. Полученный продукт реакции отфильтровывают, промывают сухим эфиром и высушивают в вакууме над фосфорным ангидридом и парафиновой стружкой. Выход 9,2 *г* (85%), т. пл. 100° (с разложением).

Указанная реакция имеет общий характер и может быть использована в случае самых различных аминокислот. Однако продолжительность пропускания фосгена существенно зависит от времени, необходимого для полного

растворения исходной аминокислоты. Так, например, при обработке фосгеном DL-метионина последний растворяется в диоксане при 40° за 10 *мин*, тогда как в случае α-аминоизомасляной кислоты на это требуется около 9 *час* при температуре 50°. Некоторые из N-карбоксиангидридов, полученных, в сущности, с помощью указанного метода, приведены в табл. 67.

Таблица 67

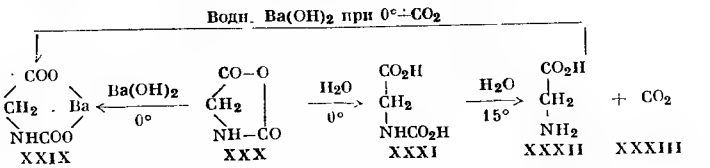
N-Карбоксиангидриды α-аминокислот, полученные методом с использованием фосгена

N-Карбоксиангидриды α-аминокислот (указана соответствующая аминокислота)	Т. пл., °С	Литература
DL-Аланин	45—46	353
L-Аланин	90	353
DL-С-Аллилглицин	92—94	388
α-Аминоизомасляная кислота	95—97	387
β-Метиловый эфир DL-аспарагиновой кислоты	84	389
S-Бензил-D-цистеин	104	390
S-Бензил-L-цистеин	104	390
S-Карбобензокси-L-цистеин	75 (с разл.)	365
γ-Этиловый эфир L-глутаминовой кислоты	71	389
γ-Метиловый эфир L-глутаминовой кислоты	99	389
Глицин	100	387
О-Ацетил-L-оксипролин	120 (с разл.) [a]	390 а
О-Тозил-L-оксипролин	115 (с разл.)	390 а
DL-Изолейцин	76—77	391
DL-Лейцин	47—50	391, 392
L-Лейцин	76—77	353, 386, 391
ε-Тозил-L-лизин	101—103	393
DL-Метионин	Масло	387
DL-Норлейцин	84—86	394
DL-Фенилаланин	127	385, 391
n-Нитро-DL-фенилаланин	183—184 (с разл.)	395
L-Пролин	45 (с разл.)	390 а
О-Ацетил-DL-серин	53—56	396, 397
О-Бензил-DL-серин	76—77 (с разл.)	398
DL-Триптофан	142 (с разл.)	399
L-Триптофан	135	399
О-Ацетил-L-тирозин	118—120	400
DL-Валин	81	391, 394

[a] $[\alpha]_D^{25°} = -75°$ (1%, в этилацетате).

Поведение N-карбоксиангидридов в водной среде. Характерное различие в поведении N-карбоксиангидрида глицина в водном растворе при 0 и 15° было отмечено Лёйксом [102] в его первой работе, посвященной этому вопросу. «Весьма своеобразно поведение ангидрида глицинкарбоновой кислоты по отношению к воде. При 0° последний растворяется в воде без заметных изменений и лишь при нагревании раствора примерно до 15° происходит выделение углекислого газа, а в растворе остается чистый глицин». Такое поведение N-карбоксиангидрида (XXX) в водном растворе объяснялось его

превращением при низких температурах в термически неустойчивую замещенную карбаминовую кислоту (XXXI), которая при повышении температуры до 15° разлагается с выделением углекислоты и одновременным образованием глицина (XXXII). Справедливость такого предположения, согласно которому промежуточно образующееся соединение имеет строение карбаминовой кислоты (XXXI), была подтверждена Лёйксом [102] после того, как им было показано, что при обработке N-карбоксиангидрида (XXX), охлажденным до 0° раствором одного эквивалента гидроокиси бария, быстро образуется нерастворимая бариевая соль (XXIX), идентичная бариевой соли, полученной ранее Зигфридом [401] при пропускании углекислого газа через охлажденный раствор глицина в баритовой воде.



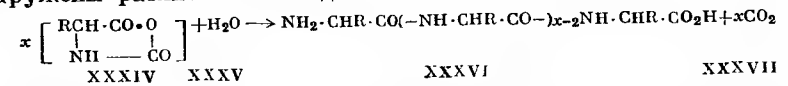
Соли описанного выше типа, обычно называемые солями Зигфрида, были предметом многочисленных исследований. Здесь следует отметить ряд основных солей, полученных Нейбергом и Кербом [402], а также весьма своеобразные соли эфиров аминокислот, описанные Френкелем и Качальским [403]. Проведенное Фаурхольтом [404] детальное исследование рассмотренной выше «карбаминовой реакции» с помощью физико-химических методов показало, что двуокись углерода способна присоединять лишь те амины, которые обладают достаточно выраженными основными свойствами, например NH_3, CH_3NH_2, $(CH_3)_2NH$ и $NH_2CHRCO_2^-$. Более поздние работы Мелдрума и Раутона [405], а также Стейди и О'Брайена [406] окончательно подтвердили тот факт, что реакционноспособной формой аминокислоты является анионная ($NH_2CHRCO_2^-$), а не биполярная форма ($^+NH_3CHRCO_2^-$). В связи с этим весьма интересны работы Фартинга [387], констатировавшего образование N-карбоксиаминокислот в содовых растворах соответствующих аминокислот. По-видимому, в таких растворах имеют место следующие обратимые превращения:

$$NH_2CHRCO_2H + Na_2CO_3 \rightleftarrows NH_2CHRCO_2^- + 2Na^+ + HCO_3^- \rightleftarrows {}^-O_2C{-}NHCHRCO_2^- + 2Na^+$$

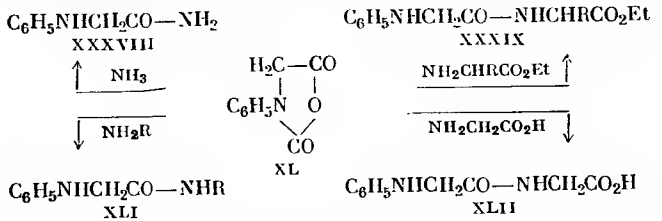
Динатриевая соль N-карбокси-α-аминокислоты ($NaO_2C - NHCHRCO_2Na$) может быть выделена в индивидуальном состоянии путем добавления метанола к водному раствору, содержащему эквимолекулярные количества карбоната натрия и свободной аминокислоты. При обработке такой динатриевой соли раствором гидроокиси бария она превращается в соответствующую соль Зигфрида (XXIX), а при взаимодействии с тионилхлоридом или фосгеном — в соответствующий N-карбоксиангидрид.

По данным Лёйкса [102], при разложении N-карбоксиангидридов α-аминокислот в присутствии лишь незначительного количества воды вместо свободной аминокислоты образуется полимерный продукт. Так, было найдено, что при растирании N-карбоксиангидрида глицина при комнатной температуре с двухкратным количеством воды выделяется углекислота и образуется нерастворимое в воде вещество, которое дает положительную биуретовую реакцию и по аналитическим данным соответствует 2,5-дикетопиперазину, но не обладает ни ярко выраженной кристаллической формой, ни свойствами, характерными для этого соединения. Благодаря своей исключительной химической интуиции Лёйкс быстро распознал полимерную природу выде-

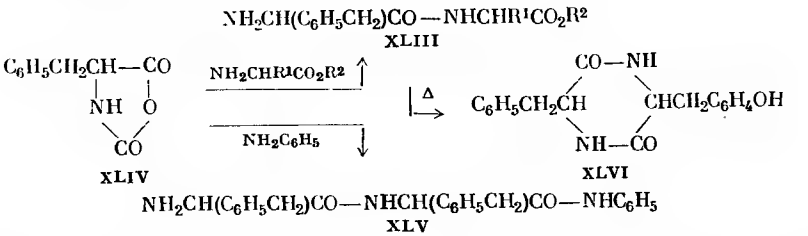
ленного им нерастворимого вещества и предположил, что оно, по всей вероятности, является идентичным полимеру глицина, полученному ранее Бальбиано и Трасциатти [101] путем нагревания раствора глицина в глицерине, или же очень близко «биуретовому основанию» Курциуса [96, 97] (раздел 4). Примерно через 20 лет Вессели [104] систематически исследовал процесс полимеризации N-карбоксиангидрида глицина в присутствии различных количеств воды и со всей очевидностью показал, что степень полимеризации ангидрида возрастает, хотя и не строго пропорционально, с уменьшением концентрации взятой воды. Так, контактирование N-карбоксиангидрида глицина с парами воды в течение нескольких дней приводит к образованию нерастворимого полимерного продукта с относительно малым числом свободных аминогрупп, тогда как в присутствии больших количеств воды образуются растворимые в воде полимеры с более низким молекулярным весом и содержащие большее число свободных аминогрупп. Отмечено также, что для того, чтобы при такого рода превращениях в качестве основного продукта реакции получить свободную аминокислоту, т. е. глицин, необходимо применять большой избыток воды, в несколько сот раз превышающий количество исходного N-карбоксиангидрида; это свидетельствует о том, что N-карбоксиангидриды α-аминокислот реагируют с водой гораздо медленнее, чем с аминами. Во всяком случае, когда в результате инициируемого водой разложения N-карбоксиангидридов (XXXIV) в качестве конечных продуктов реакции получаются полимеры (XXXVI), то последние содержат концевые свободные α-амино- и α-карбоксильные группы, которые могут быть легко обнаружены различными методами [104, 360].



Ступенчатый синтез пептидов. Реакция N-карбоксиангидридов α-аминокислот с каким-либо амином, например с аммиаком, алкил- или диалкиламином, эфиром аминокислоты или пептида или даже со свободной аминокислотой или пептидом, приводит в определенных условиях к образованию соответствующего амида или пептида. Эта реакция была впервые описана в 1907 г. Лёйксом и Манассе [354], которые при обработке N-карбоксиангидрида N-фенилглицина (XL) избытком этанольного раствора аммиака получили N-фенилглицинамид (XXXVIII). Позднее, в 1922 г., эта реакция была распространена Фуксом [384] на получение соответствующего анилида (XLI; R = C_6H_5), а примерно через три года использована Вессели [104] для синтеза соответствующего этиламида (XLI; R = C_2H_5). Как было отмечено Вессели, при обработке ангидрида (XL) горячим водным раствором глицина наблюдается выделение углекислого газа, и при охлаждении прозрачного раствора выпадает осадок N-фенилглицилглицина (XLII).



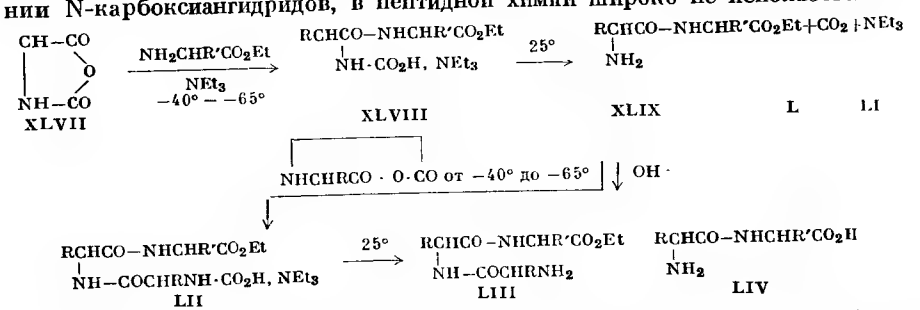
Взаимодействие этилового эфира L-тирозина в хлороформном растворе с эквимолярным количеством ангидрида (XL) также привело к образованию соответствующего эфира дипептида (XXXIX; R = *n*-HO ($C_6H_4CH_2$). Эти исследования были впоследствии развиты Зигмундом и Вессели [376], синтезировавшими DL-фенилаланилглицин (XLIII; $R^1 = R^2 = H$) и DL-фенилаланилглицилглицин путем взаимодействия этилацетатного раствора N-карбоксиангидрида DL-фенилаланина (XLIV) при комнатной температуре с водным раствором глицина и глицилглицина соответственно. Однако при попытке провести аналогичную конденсацию путем нагревания смеси ангидрида (XLIV) с этиловым эфиром тирозина в хлороформном растворе был получен ангидрид фенилаланилтирозина (XLVI) вследствие первоначального образования и последующей циклизации промежуточно образующегося эфира дипептида (XLIII; $R^1 = n\text{-}HOC_6H_4CH_2$; $R^2 = C_2H_5$). Показано также, что реакция между N-карбоксиангидридами и аминами иногда приводит к полимеризации. Так например, в качестве основного продукта реакции между ангидридом (XLIV) и анилином вместо ожидаемого



анилида фенилаланина был выделен анилид фенилаланилфенилаланина (XLV). Образование последнего является, по всей вероятности, результатом двухстадийной реакции, заключающейся в первоначальном образовании анилида фенилаланина и последующем взаимодействии его со второй молекулой N-карбоксиангидрида (XLIV). Дальнейшее протекание этого процесса путем повторения аналогичных превращений видно из того факта, что из реакционной смеси в качестве побочного продукта реакции был выделен анилид полифенилаланина неизвестной степени полимеризации. Следует отметить, что если в указанной выше реакции в качестве аминокомпонента вместо анилина использовать N-метиланилин, то при этом, как и в последнем случае, образуется только полимерный продукт. Таков краткий обзор ранних попыток применения N-карбоксиангидридов для ступенчатого синтеза пептидов.

Несмотря на отсутствие удовлетворительных методов синтеза пептидов определенного строения, на протяжении ряда лет после исследований Зигмунда и Вессели [376] N-карбоксиангидриды использовались для этих целей весьма редко. Лишь в 1938 г. Хант и дю Виньо [359] применили эти соединения для получения D-аланил-L-гистидина ($[\alpha]_D^{25°} = +7{,}0°$, 1% в воде), который был синтезирован ими конденсацией N-карбоксиангидрида D-аланина с метиловым эфиром гистидина в хлороформном растворе при комнатной температуре с последующим омылением образовавшегося метилового эфира D-аланил-L-гистидина. Сравнение удельного вращения полученного дипептида с аутентичным образцом, приготовленным другим методом, показало, что указанный синтез не сопровождается заметной рацемизацией. Однако прошло более десяти лет, прежде чем Бейли [353] впервые провел систематическое исследование возможности применения N-карбоксиангидридов для получения простых ди- и трипептидов, содержащих N-концевой остаток аланина, цистина, глицина, лейцина или тирозина. Отправным пунктом для

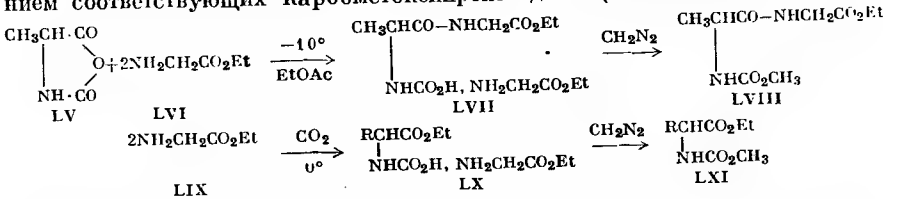
этого исследования послужил тот факт, что N-карбоксиангидриды α-аминокислот в присутствии третичного амина, например триэтиламина, обычно быстро полимеризуются при комнатной температуре, значительно медленнее при —40° и еще медленнее при —70°. Поэтому метод, использованный Бейли, заключался во взаимодействии соответствующего N-карбоксиангидрида (XLVII) с эквимолекулярным количеством эфира α-аминокислоты в этилацетатном, хлороформном или тетрагидрофурановом растворах при температуре от —40 до —65° в присутствии таких третичных оснований, как триэтиламин или метилдиоктиламин. Поскольку при таких температурах конденсация протекает с промежуточным образованием карбамата (XLVIII), дальнейшая конденсация последнего с другой молекулой N-карбоксиангидрида в значительной степени затруднена. Поскольку при более высокой температуре карбамат (XLVIII) весьма неустойчив, при нагревании реакционной смеси до комнатной температуры он разлагается с образованием эфира пептида (XLIX) и выделением двуокиси углерода. Образовавшийся эфир дипептида (XLIX) может быть затем превращен в свободный дипептид (LIV) путем омыления или после охлаждения реакционной смеси до температуры от —40 до —65° может опять конденсироваться с другой молекулой N-карбоксиангидрида с образованием эфира трипептида (LIII). Как было показано ранее [359], этот процесс, по-видимому, не сопровождается заметной рацемизацией. Однако вследствие появления и развития более простых методов ступенчатого синтеза пептидов упомянутый выше метод, основанный на использовании N-карбоксиангидридов, в пептидной химии широко не использовался.



Типичная методика 20 [353]. L-Аланил-L-аланилглицин. К 1,2 *мл* 2%-ного хлороформного раствора аммиака при перемешивании добавляют 0,28 *г* хлоргидрата этилового эфира глицина и выпавший осадок хлористого аммония отфильтровывают. Для удаления небольшого избытка аммиака фильтрат упаривают в вакууме досуха при температуре не выше 35°; остаток растворяют в 2 *мл* хлороформа, раствор охлаждают до —65° смесью твердой углекислоты с ацетоном и добавляют к нему 0,40 *мл* метилдиоктиламина. Затем к реакционной смеси медленно прибавляют предварительно охлажденный до —65° раствор 0,23 *г* N-карбоксиангидрида L-аланина (методики 16—19) в 1,5 *мл* тетрагидрофурана. Примерно через 3 *час* реакционную смесь нагревают в вакууме до комнатной температуры. Полученный раствор, содержащий смесь этилового эфира L-аланилглицина и метилдиоактиламина, снова охлаждают до —65° и затем обрабатывают эквимолекулярным количеством N-карбоксиангидрида L-аланина в ранее указанных условиях. Через 3 *час* температуру реакционной массы доводят до комнатной и смесь выпаривают в вакууме досуха. Остаток омыляют 0,3 н. раствором гидроокиси бария (1,2 экв.) при комнатной температуре в течение 15 *мин*, затем раствор нейтрализуют 0,3 н. серной кислотой, фильтруют и фильтрат концентрируют

в вакууме. Остаток растворяют в нескольких каплях воды; при добавлении к раствору ацетона выпадает осадок L-аланил-L-аланилглицина. Выход 85%; $[\alpha]_D^{22°} = -48{,}1°$ (2%, в воде).

В связи с приведенной методикой интересно отметить, что реакция между N-карбоксиангидридом DL-аланина (LV) и двумя эквивалентами этилового эфира глицина (LVI) в этилацетатном растворе при —10° приводит к образованию кристаллической соли этилового эфира N-карбокси-DL-аланилглицина и этилового эфира глицина (LVII) [353]. Хотя эта соль в хлороформном растворе медленно разлагается с выделением углекислоты при комнатной температуре и быстрее — при 40°, все же в сухом виде ее можно хранить при комнатной температуре в атмосфере углекислоты без заметного разложения. По своим основным свойствам соль (LVII) напоминает карбаматы (LX), полученные ранее Френкелем и Качальским [403] путем пропускания углекислоты в растворы эфиров α-аминокислот (LIX) при 0°. Так, например, карбаматы обоих типов (LVII и LX) реагируют с диазометаном с образованием соответствующих карбометоксипроизводных (LVIII и LXI):

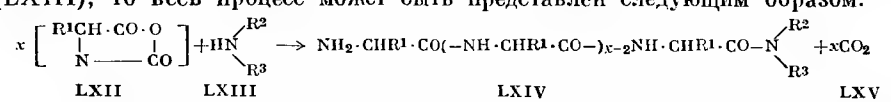


Полимеризация N-карбоксиангидридов α-аминокислот. Все известные до сих пор N-карбоксиангидриды α-аминокислот в определенных условиях способны полимеризоваться с выделением двуокиси углерода. В отличие от рассмотренной ранее полимеризации эфиров пептидов (раздел 4), где удлинение цепи, по-видимому, достигается путем конденсации двух полимерных молекул, в данном случае наращивание цепи осуществляется исключительно лишь путем повторяющегося присоединения мономерного N-карбоксиангидрида к полимерной молекуле. Такую полимеризацию можно проводить, как описано ниже, в твердом состоянии, в жидком состоянии или в растворе.

а) Полимеризация в твердом состоянии. Использование водяных паров в качестве катализатора в процессе полимеризации N-карбоксиангидридов уже отмечалось ранее. Полиаминокислоты, полученные таким путем, содержат концевые свободные α-амино- и α-карбоксильные группы и, по-видимому, образуются по общей схеме, представленной формулами XXXIV—XXXVII. Кристаллические N-карбоксиангидриды также претерпевают значительную поликонденсацию при их продолжительном (несколько месяцев) хранении при комнатной температуре. Однако процесс полимеризации может быть значительно ускорен путем нагревания мономера до температуры, несколько ниже его температуры плавления. Так, Бергман, Зервас и Росс [358] отметили, что свежеприготовленный N-карбоксиангидрид ε-карбобензокси-L-лизина плавится с разложением при 100°, тогда как после выдерживания при комнатной температуре в течение нескольких месяцев его температура плавления превышает 250°. Эти данные подтверждены Миллером, Фанкухеном и Марком [407], которые путем рентгенографических исследований показали, кроме того, что поликонденсация кристаллического мономера при 85° заканчивается в основном через 24 *час*. Однако надо отметить, что изучению процесса полимеризации N-карбоксиангидридов в твердом состоянии не уделялось большого внимания.

б) Полимеризация в жидком состоянии. При нагревании выше температуры плавления N-карбокси-α-аминокислоты разлагаются с выделением двуокиси углерода и одновременным образованием полимера. В процессе полимеризации жидкая масса постепенно затвердевает, превращаясь в стекловидный полимер, средняя длина цепи которого зависит от строения радикала исходной аминокислоты. Хотя этим методом и могут быть получены полипептиды, содержащие в среднем около 100 аминокислотных остатков, однако чаще образуются полимеры меньшего молекулярного веса. Присутствие в мономере следов воды заметно ускоряет процесс полимеризации. Так, например, Качальским, Гросфелдом и Френкелем [408] на основании тщательно проведенных исследований было установлено, что хорошо высушенный образец N-карбоксиангидрида ε-карбобензокси-L-лизина при нагревании его в вакууме в течение 1 *час* при 102—105° превращается в полимер, содержащий 32 аминокислотных остатка; присутствие в мономере следов влаги было вполне достаточным, чтобы сократить время, необходимое для почти полного завершения такой полимеризации, приблизительно на 20%. Измерение оптического вращения хлоргидрата L-лизина, выделенного из кислотного гидролизата полученного полимера, свидетельствовало об отсутствии заметной рацемизации во время процесса поликонденсации [112]. Сохранение оптической конфигурации является весьма типичным для полимеризации оптически активных N-карбоксиангидридов α-аминокислот [409].

в) Полимеризация в растворе. N-Карбоксиангидриды чаще всего полимеризуют в тщательно очищенных инертных органических растворителях, например в бензоле, хлороформе, диоксане, этилацетате или нитробензоле. Обычно реакцию катализируют путем добавления подходящего инициатора, например следов воды, а также первичных или вторичных аминов; реже используются третичные амины, свободные аминокислоты, эфиры аминокислот, полимеры аминокислот, соли щелочных металлов и едкие щелочи. Если инициатором полимеризации служит первичный или вторичный амин (LXIII), то весь процесс может быть представлен следующим образом:



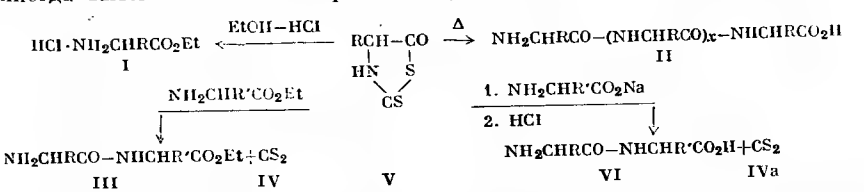
Следует отметить, что поскольку первоначальная стадия полимеризации заключается в конденсации используемого в качестве катализатора амина с одним эквивалентом N-карбоксиангидрида, то конечный продукт полимеризации содержит свободную аминогруппу и блокированную карбоксильную группу. Обычно средняя величина образующегося полимера зависит от таких факторов, как его растворимость, соотношение концентрации N-карбоксиангидрида и катализатора и природа используемого растворителя. При определенных условиях этим методом могут быть легко получены полимеры, содержащие в среднем 1000 и более аминокислотных остатков. Указанный метод был использован для получения полиаминокислот, состоящих из однородных аминокислотных остатков, а также полимеров, включающих остатки двух и большего числа различных аминокислот (сополимеры). Поскольку смешанные полимеры второго типа обычно образуются при неупорядоченной поликонденсации смеси двух или большего числа N-карбоксиангидридов различных α-аминокислот, то, хотя общий состав полимера является известным, последовательность и распределение аминокислотных остатков в образующемся полимере остаются неизвестными. Иногда при указанных выше реакциях процесс полимеризации прерывается вследствие образования

циклического пептида; например, при полимеризации N-карбоксиангидрида глицина в диметилформамиде в присутствии хлористого лития были получены значительные количества циклогексаглицила [409a].

К сожалению, в данной книге не представляется возможным перечислить огромное число полимеров и сополимеров, полученных на основании рассмотренных выше методов, а также обсудить обширные физические, химические и биологические исследования, предметом которых были эти интересные соединения. Эти вопросы исчерпывающе освещены в печати Качальским [112], а также Бамфордом, Эллиоттом и Ханби [113].

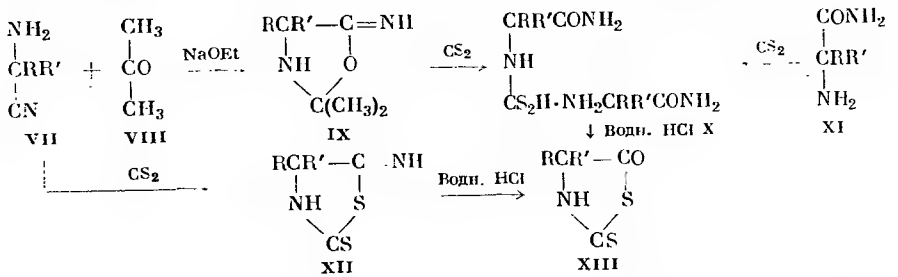
Оценка метода. Значительная, как правило, неустойчивость N-карбоксиангидридов α-аминокислот в присутствии следов влаги, а также необходимость специальных предосторожностей при проведении контролируемой конденсации таких ангидридов с соответствующим амином препятствовали широкому использованию этих соединений для ступенчатого синтеза низших пептидов. Однако N-карбоксиангидриды оказались исключительно ценными мономерами для получения полиаминокислот и в настоящее время являются фактически самыми удобными и наиболее часто применяемыми исходными соединениями для синтеза таких полимеров. Хотя полимеризация N-карбоксиангидридов может быть осуществлена в твердом состоянии, в жидком состоянии и в растворе, по всей вероятности, лишь последний метод обеспечивает в настоящее время возможность синтеза полипептидов с большим молекулярным весом и заранее определенной степенью полимеризации. Действительно, этим методом было синтезировано большинство полиаминокислот, описанных до последнего времени.

11. Тиотиазолидоновый метод. *Принцип.* 2-Тио-5-тиазолидоны представляют собой серусодержащие аналоги N-карбоксиангидридов α-аминокислот (раздел 10) и, в сущности, могут рассматриваться как внутримолекулярные ангидриды дитиокарбаминовой кислоты $HS_2CNHCHRCO_2H$. При обработке 2-тио-5-тиазолидона (V) спиртовым раствором хлористого водорода образуется хлоргидрат эфира соответствующей аминокислоты (I), тогда как конденсация (V) с эфиром аминокислоты в органическом растворителе или с натриевой солью аминокислоты в водном растворе протекает с образованием соответствующего пептидного производного (III или VI) и одновременным выделением сероуглерода (IV). 2-Тио-5-тиазолидоны являются в большинстве случаев устойчивыми кристаллическими соединениями, которые проявляют значительно меньшую склонность к полимеризации, чем соответствующие N-карбоксиангидриды α-аминокислот. Однако нагревание 2-тио-5-тиазолидонов в подходящем органическом растворителе может иногда вызывать их полимеризацию (II).



Получение 2-тио-5-тиазолидонов. Синтез 2-тио-5-тиазолидона (XIII; R = R′ = H) был описан в 1948 г. Куком, Хейльброном и Леви [410]; он включает в себя конденсацию аминоацетонитрила (VII; R = R′ = H) с ацетоном (VIII) под действием этилата натрия как катализатора с образованием 5-имино-2,2-диметилоксазолидина (IX), который в свою очередь под

действием сероуглерода легко расщепляется с раскрытием цикла, давая карбамилметиламмониевую соль карбамилметилдитиокарбаминовой кислоты (X). Обработка этого промежуточного соединения холодным разбавленным водным раствором минеральной кислоты приводит к образованию соответствующего 2-тио-5-тиазолидона (XIII) (методика 21). Хотя последний может быть получен более прямым путем при взаимодействии аминоацетонитрила с сероуглеродом с последующей обработкой промежуточно образующегося соединения (XII; R = R′ = H) водным раствором минеральной кислоты, однако в отношении выхода и чистоты продукта реакции этот метод значительно уступает приведенному выше. Использование в первом методе α-аминопропионитрила (VII; R = H; R′ = CH_3) вместо ацетонитрила позволило Куку и Леви [411] получить 2-тио-4-метил-5-тиазолидон (XIII; R = H;



R′ = CH_3). Впоследствии Дейвисом и Леви [412] аналогичным путем были синтезированы 2-тио-4-тиазолидоновые производные α-аминоизомасляной кислоты, глутамина, лейцина, метионина, норлейцина, тирозина и валина; необходимое для этой цели производное дитиокарбаминовой кислоты (X) было получено ими действием сероуглерода на амид соответствующей аминокислоты (XI) в водном растворе углекислого калия. Следует отметить, что использованные в этой реакции амиды тирозина и лизина имели L-конфигурацию. Хотя тиотиазолидон, полученный из L-тирозина, был оптически активным, он быстро рацемизовался в присутствии оснований или при стоянии в течение 2—3 *час* в метанольном растворе; напротив, этот тиотиазолидон оказался значительно более устойчивым к рацемизации в присутствии 0,1 экв. хлористого водорода или в этанольном растворе и вообще не давал заметной рацемизации в этилацетатном растворе. Свежеприготовленный, но неочищенный тиотиазолидон лейцина тоже обладал оптической активностью, однако все попытки очистить это соединение путем перекристаллизации приводили к его полной оптической инактивации. Во всяком случае, эти примеры достаточно убедительно иллюстрируют склонность оптически деятельных тиотиазолидонов к рацемизации. Реакция между сероуглеродом и амидом соответствующей аминокислоты в щелочном растворе была также использована Гофманом, Линденманом, Маги и Каном [413] для получения тиотиазолидоновых производных аланина, лейцина, тирозина и аспарагиновой кислоты (методика 22).

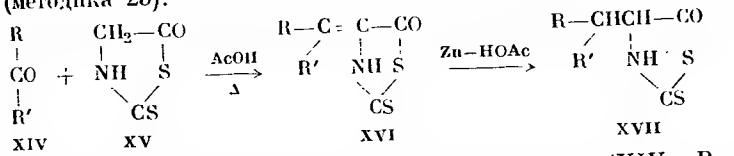
Типичная методика 21 [410]. 2-Тио-5-тиазолидон (XIII). В 5-литровую колбу помещают 2,5 *л* этанола и при перемешивании и умеренном охлаждении прибавляют к нему в течение 30 *мин* 500 *мл* концентрированной серной кислоты, а затем к реакционной смеси быстро добавляют при 45° 700 *г* α-аминоацетонитрила. Через 5—10 *мин* из раствора выпадает кристаллический осадок; реакционную смесь перемешивают еще несколько часов, после чего

осадок отфильтровывают и промывают 1 *л* этанола. Затем продукт реакции растворяют в 1 *л* воды и полученный раствор при перемешивании добавляют к 3 *л* этанола; смесь оставляют на ночь и выпавший осадок нейтрального сульфата аминоацетонитрила отфильтровывают; выход 725 *г*, т. пл. 177° (с разложением).

К тонкой суспензии 26 *г* сульфата аминоацетонитрила в 105 *мл* ацетона при перемешивании добавляют в течение 2 *час* раствор 4,9 *г* натрия в 120 *мл* этанола (до нейтральной реакции по фенолфталеину). Сульфат натрия отфильтровывают и к фильтрату прибавляют 15 *мл* сероуглерода. Выпавший кристаллический осадок отфильтровывают; при разбавлении маточного раствора эфиром и выдерживании смеси при 0° в течение ночи выделяют дополнительную порцию вещества. Общий выход составляет 9,5 *г*. Для перекристаллизации объединенный осадок растворяют в минимальном количестве воды и к раствору добавляют этанол или ацетон до полного осаждения; при этом получают 6,8 *г* карбамилметиламмониевой соли карбамилметилдитиокарбаминовой кислоты (X), т. пл. 139° (с разложением). При добавлении 10 *мл* воды к охлажденному до 0° раствору 2 *г* соли (X) в 5 *мл* концентрированной соляной кислоты выделяют 1 *г* 2-тио-5-тиазолидона (XIII), который может быть перекристаллизован из бензола. Полученный 2-тио-5-тиазолидон плавится выше 300° (с разложением).

Типичная методика 22 [413]. DL-2-Тио-4-метил-5-тиазолидон. К раствору 16,2 *г* карбоната калия в 65 *мл* воды добавляют 7,2 *мл* сероуглерода и 9,0 *г* амида DL-аланина (раздел 43) и смесь встряхивают в течение 9 *час* при комнатной температуре. Затем полученную суспензию экстрагируют эфиром (3 × 40 *мл*), водный слой охлаждают до —2° и подкисляют концентрированной соляной кислотой до кислой реакции по конго. Реакционную смесь оставляют на 30 *мин* при 4°, выпавший желтый кристаллический осадок отфильтровывают, промывают несколько раз ледяной водой и высушивают при комнатной температуре в вакууме. Полученный DL-2-тио-4-метил-5-тиазолидон перекристаллизовывают из водного метанола; выход 6,2 *г* (41%), т. пл. 124—126°.

В 1949 г. Биллимория и Куком [414] был предложен другой метод синтеза 4-замещенных 2-тио-5-тиазолидонов; этот метод предусматривает первоначальное получение 4-алкилиден- или 4-арилидентиотиазолидона (XVI) путем конденсации алифатического или ароматического альдегида или кетона (XIV) с 2-тио-5-тиазолидоном (XV) в кипящей ледяной уксусной кислоте, содержащей каталитические количества пиперидина или какого-либо другого первичного, вторичного или третичного амина. Последующее восстановление продукта конденсации (XVI) цинком в уксусной кислоте при нагревании приводит к получению соответствующего 4-замещенного 2-тио-5-тиазолидона (XVII) (методика 23).



Аналогичные реакции конденсации ацетальдегида (XIV; R = CH_3, R′ = H), метил-2,2-диэтоксиэтилсульфида [$CH_3SCH_2CH(OC_2H_5)_2$]; *н*-масляного альдегида (XIV; R = $CH_3CH_2CH_2$, R′ = H), изомасляного альдегида (XIV, R = $CH(CH_3)_2$, R′ = H), ацетона (XIV; R = R′ = CH_3).

бензальдегида (XIV; R = C_6H_5, R′ = H) и *п*-оксибензальдегида (XIV; R = *п*-HOC_6H_4, R′ = H) с 2-тио-5-тиазолидоном (XV) с последующим восстановлением полученных продуктов реакции привели к образованию тиотиазолидоновых производных (XVII) α-амино-*н*-масляной кислоты, метионина, норлейцина, лейцина, валина, фенилаланина и тирозина соответственно. Поскольку в процессе таких синтезов возникает новый асимметрический центр, то при этом всегда образуются лишь рацемические соединения.

Типичная методика 23 [414]. 2-Тио-4-бензил-5-тиазолидон. К раствору 20 *г* 2-тио-5-тиазолидона (XV) (методика 21) в 200 *мл* кипящей ледяной уксусной кислоты добавляют 21 *г* бензальдегида (XIV, R = C_6H_5, R′ = H), а затем 3 капли пиперидина. Примерно через 15 *мин* при комнатной температуре из раствора выпадает плотный желтый кристаллический осадок, который спустя 12 *час* отфильтровывают; после упаривания маточного раствора выделяют вторую порцию кристаллов. Общий выход 2-тио-4-бензилиден-5-тиазолидона (XVI; R = C_6H_5, R′ = H) составляет 31 *г* (98% теории); т. пл. 212—214°; после перекристаллизации из ледяной уксусной кислоты температура плавления не изменяется.

К раствору 25 *г* 2-тио-4-бензилиден-5-тиазолидона в 1 *л* ледяной уксусной кислоты добавляют 0,5 *мл* концентрированной HCl и затем постепенно прибавляют 40 *г* цинковой пыли (порциями по 10 *г*), через 0,5 *час* раствор обесцвечивается; затем избыток цинковой пыли отфильтровывают, а фильтрат упаривают в вакууме досуха. Твердый остаток обрабатывают 6 н. соляной кислотой и смесь фильтруют; фильтрат, содержащий следы цинка, в дальнейшем не используют. Продукт реакции (23,5 *г*, т. пл. 152—153°) очищают

Таблица 68

4-Замещенные 2-тио-5-тиазолидоновые производные некоторых α-аминокислот

2-Тио-5-тиазолидоновое производное	Т. пл., °С	Литература [б]
DL-Аланина	128,4	*411*, 413
DL-α-Амино-*н*-масляной кислоты	79—80	414
α-Аминоизомасляной кислоты	132	412
DL-Аспарагиновой кислоты	161—163	413
DL-Циклогексилглицина	185—186	414
DL-Глутамина	143—145	412
Глицина	>300 (с разл.)	410
DL-Лейцина	95—97	412, *413*
DL-Метионина	97	412
DL-Норлейцина	73—74	412
DL-Фенилаланина	159—160	414
DL-Тирозина	166—169	*413*, 414
L-Тирозина [а]	154	412
DL-Валина	88	412

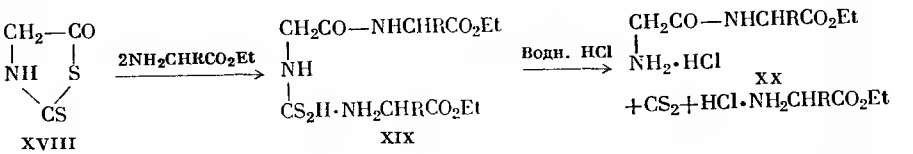
[а] $[\alpha]_D^{20} = +174°$ (2,4% в метаноле).

[б] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

путем быстрого растворения в холодном 2 н. растворе едкого натра и последующего подкисления; при охлаждении раствора 2-тио-4-бензил-5-тиазолидон кристаллизуется в виде игл; т. пл. 157—160°. Хотя при перекристаллизации из смеси бензола с петролейным эфиром медленно осаждается чистый 2-тио-4-бензил-5-тиазолидон, имеющий т. пл. 159—160°, однако эта операция очистки может быть осуществлена только с большими потерями.

Некоторые из 4-замещенных 2-тио-5-тиазолидонов, полученных указанными ранее методами, приведены в табл. 68.

Ступенчатый синтез пептидов. Использование 2-тио-5-тиазолидонов для синтеза пептидов, содержащих N-концевой остаток глицина, впервые было описано Куком и Леви в 1950 г. [415]. Конденсация 2-тио-5-тиазолидона с соответствующим амином, приводящая к образованию производного пептида, протекает аналогично конденсации с участием N-карбоксиангидридов α-аминокислот (раздел 10). Так, при взаимодействии одного эквивалента 2-тио-5-тиазолидона (XVIII) с двумя эквивалентами эфира аминокислоты или пептида в подходящем органическом растворителе, например в этаноле или хлороформе, образуется промежуточный дитиокарбамат (XIX), который в свою очередь при добавлении холодного водного раствора минеральной кислоты легко разлагается с образованием эквимолекулярных количеств эфира N-глициламинокислоты или N-глицилпептида (XX), сероуглерода и хлоргидрата эфира глицина. Обычно реакцию проводят при комнатной или при более низкой температуре, хотя иногда целесообразно работать и при более высоких температурах. Практически более удобный вариант этого



метода заключается в замене одного эквивалента эфира аминокислоты одним эквивалентом триэтиламина или в использовании одного эквивалента хлоргидрата эфира аминокислоты и двух эквивалентов триэтиламина вместо двух эквивалентов эфира аминокислоты (методика 24); благодаря этому в значительной степени устраняется опасность загрязнения продукта реакции избытком эфира аминокислоты. Указанный метод был использован для синтеза кристаллических хлоргидратов следующих эфиров пептидов:

H-Gly-Gly-OEt, H-$(Gly)_3$-OEt, H-$(Gly)_4$-OEt; H-$(Gly)_5$-OEt,

H-Gly-DL-Phe-OEt и H-Gly-L-Tyr-OMe

[415]. Другой метод, предусматривающий получение свободного пептида путем взаимодействия аминокислоты с 2-тио-5-тиазолидоном в водно-щелочном растворе с последующей нейтрализацией реакционной смеси, был использован в синтезе глицил-DL-фенилаланина.

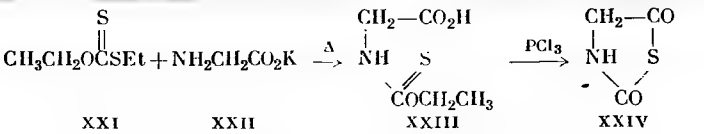
Типичная методика 24 [415]. Хлоргидрат этилового эфира триглицина. К смеси 15 *г* (1 экв) хлоргидрата этилового эфира глицилглицина (методика 3) и 15 *г* (2 экв.) триэтиламина в 150 *мл* этанола добавляют 10 *г* 2-тио-5-тиазолидона (методика 21) и реакционную смесь оставляют примерно на 15 *мин*

при комнатной температуре, после чего прозрачный раствор подкисляют 30 *мл* 5 н. соляной кислоты. Кристаллизацию вызывают путем внесения затравки или потирания стеклянной палочкой о стенки сосуда; при этом выпадает осадок хлоргидрата этилового эфира триглицина, кристаллизующегося в виде пластинок. Выход 16,7 *г* (86%); т. пл. 216—217°.

Хотя незамещенные 2-тио-5-тиазолидоны легко вступают в конденсацию с различными аминами, образуя соответствующие N-глицилпроизводные, аналогичная реакция в случае 4-замещенных 2-тио-5-тиазолидонов, приводящая к образованию соединений, содержащих в качестве N-концевого остатка остатки других аминокислот, не всегда дает удовлетворительные результаты. Так, например, попытки Кука и Леви [416] провести конденсацию 2-тио-4-метил-5-тиазолидона (V; R = CH_3) с эфирами аминокислот путем использования метода, аналогичного приведенному выше для незамещенного тиазолидона, обычно приводили к получению эфиров соответствующих пептидов с N-концевым остатком аланина (III; R = CH_3) с очень низким выходом. Правда, было найдено, что конденсация 2-тио-4-метил-5-тиазолидона со свободной аминокислотой в щелочном растворе или в горячей ледяной уксусной кислоте приводит к более удовлетворительному выходу соответствующего пептида, однако выделяемый продукт реакции всегда был в значительной степени загрязнен исходной аминокислотой. Очистку полученного свободного пептида от примеси аминокислоты рекомендуется проводить на колонке с катионообменной смолой. Хотя в дальнейшем попытка Дейвпса и Леви [412] провести конденсацию оптически активного 2-тио-5-тиазолидона L-тирозина (V; R = *n*-$HOC_6H_4CH_2$) с этиловым эфиром глицилглицина в этанольном растворе привела к выделению хлоргидрата этилового эфира тирозилглицилглицина с хорошим выходом, однако полученный продукт реакции оказался полностью рацемизованным. Значительная склонность оптически активных тиотиазолидонов к рацемизации в присутствии оснований уже отмечена ранее. За исключением рассмотренных работ, тиотиазолидоны лишь изредка использовались для ступенчатого синтеза пептидов.

Благодаря их большей устойчивости 2-тио-5-тиазолидоны проявляют иногда меньшую склонность к реакциям полимеризации, чем соответствующие N-карбоксиангидриды α-аминокислот (раздел 10). Хотя исчерпывающие данные по этому вопросу отсутствуют, очевидно, что для межмолекулярной конденсации тиотиазолидонов необходимы несколько более жесткие температурные условия и средняя длина цепи образующегося полимера значительно меньше, чем у полимера, полученного с использованием соответствующего N-карбоксиангидрида. Так, Кук и Леви [417] описали синтез полиглицина (II; $x = 7$, R = H), содержащего в среднем около 9 аминокислотных остатков, путем обработки 2-тио-5-тиазолидона (V, R = H) кипящим пиридином, этанолом или метанолом в течение нескольких минут. В связи с этим следует отметить, что аналог N-карбоксиангидрида глицина, содержащий один атом серы, а именно тиазолид-2,5-дион, по-видимому, обладает устойчивостью, промежуточной между устойчивостями N-карбоксиангидрида глицина и 2-тио-5-тиазолидона. Тиазолид-2,5-дион довольно устойчив к влаге воздуха, однако, как показано Обером, Джефрисом и Ноттом [418], при продолжительном нагревании в присутствии воды он легко полимеризуется с образованием полимера глицина. Кристаллический тиазолид-2,5-дион (XXIV), т. пл. 110°, может быть получен путем нагревания калиевой соли глицина (XXII) с диэтиловым эфиром дитиоугольной кислоты (XXI) в водном растворе в течение примерно 18 *час* с последующей обработкой образующегося N-тионкарбэтоксиглицина (XXIII) треххлористым фосфором [418].

419]. При попытке провести аналогичную реакцию циклодеалкилирования



в случае N-тионкарбэтоксисаркозина и N-тионкарбэтокси-DL-аланина были получены лишь некристаллизующиеся масла [418].

Оценка метода. 2-Тио-5-тиазолидоны сравнительно редко использовались для ступенчатого синтеза низших пептидов, причем их применение ограничивалось в основном получением пептидов, содержащих N-концевой остаток глицина. Немногие попытки использовать 4-замещенные 2-тио-5-тиазолидоны не всегда приводили к успеху. Так, при применении соответствующих 4-метилпроизводных хотя и были получены пептиды, содержащие N-концевой остаток аланина, но с низким выходом и со значительной примесью исходной аминокислоты. Другим недостатком указанного метода является очень большая склонность оптически активных 4-замещенных 2-тио-5-тиазолидонов к рацемизации в присутствии оснований. Такая рацемизация наблюдалась, в частности, при попытках получить этим методом оптически активные пептиды. Случаев применения производных 2-тио-5-тиазолидонов в качестве мономеров для синтеза полимеров аминокислот известно слишком мало, поэтому обсуждать этот вопрос в настоящее время представляется нецелесообразным.

МЕТОДЫ СИНТЕЗА ПЕПТИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИЗБИРАТЕЛЬНО СНИМАЕМЫХ ЗАЩИТНЫХ ГРУПП

12. Общие положения. При рассмотрении методов, которые могут быть использованы для связывания двух аминокислот пептидной связью, наиболее легкой и простой представляется прямая конденсация α-аминогруппы одной аминокислоты и α-карбоксильной группы другой с отщеплением одной молекулы воды. Такой «идеализированный» синтез пептидов можно представить следующей схемой:

$$\underset{\text{I}}{NH_2CHRCO_2H} + \underset{\text{II}}{NH_2CHR'CO_2H} \longrightarrow \underset{\text{III}}{NH_2CHRCO{-}NHCHR'CO_2H} + \underset{\text{IV}}{H_2O}$$

Однако создание пептидной связи путем прямой конденсации, как указано выше, оказывается трудным не только вследствие биполярной природы связываемых аминокислот, но и из энергетических соображений. Поскольку в такой конденсации принимают участие карбоксильная группа одной аминокислоты (I) и аминогруппа другой (II), то при этом важно подавить реакционную способность аминогруппы первой аминокислоты и карбоксильной группы второй. Поэтому практически оказывается необходимым соответствующее замещение этих функциональных групп перед конденсацией. Защитные группировки по своей природе должны обеспечивать их легкое удаление и последующую конденсацию такими методами, которые не будут вызывать расщепления лабильной молекулы пептида. Учитывая это, можно перечислить следующую последовательность операций для соединения аминокислот пептидной связью.

а) *Защита аминогруппы.* Основным условием при выборе подходящего блокирующего заместителя для аминогруппы аминокислоты является

не только легкость получения производного с соответствующей защитной группировкой, но также требование, чтобы последующее удаление данной защитной группы протекало в условиях, не ведущих к заметной деструкции остальной части молекулы. Среди различных заместителей, удовлетворяющих этому требованию, следует назвать карбобензокси-($C_6H_5CH_2OCO$ —), *п*-нитрокарбобензокси-($NO_2C_6H_4CH_2OCO$ —); карбоаллилокси-($CH_2 = CH$ — —CH_2OCO —), *п*-толуолсульфонильную ($CH_3C_6H_4SO_2$ —), фталильную [$C_6H_4(CO)_2$ —], тритильную [$(C_6H_5)_3C$ —], бензильную ($C_6H_5CH_2$ —), дибензильную [$(C_6H_5CH_2)_2$=], хлорацетильную ($ClCH_2CO$ —), формильную (HCO—) и *о*-нитрофеноксиацетильную ($NO_2C_6H_4OCH_2CO$ —) группы. Селективные методы, используемые для полного удаления этих защитных групп, включают в себя наряду с другими обработку кислотами в водных и неводных средах, расщепление разбавленной щелочью, гидрогенолиз и гидразинолиз.

б) *Защита карбоксильной группы.* Защита карбоксильной группы аминокислоты связана с меньшими затруднениями и может быть легко достигнута путем образования щелочной соли NH_2CHRCO_2Na, если пептидный синтез проводится в водной среде, или сложного эфира (метилового, этилового или бензилового), если используются неводные среды. Регенерация карбоксильной группы в первом случае может быть легко осуществлена путем нейтрализации кислотой, в то время как в случае метиловых или этиловых эфиров обычно используют омыление щелочью или избирательное расщепление разбавленной кислотой. Для селективного расщепления бензиловых эфиров, как правило, применяют гидрогенолиз.

в) *Пептидный синтез.* После соответствующей защиты двух вводимых в реакцию аминокислот (согласно «а» и «б») возникает вопрос, каким способом можно осуществить конденсацию полученных производных. Эта проблема была удовлетворительно решена путем превращения свободной карбоксильной функции ацилированной аминокислоты, например $C_6H_5CH_2OCO$ — $NHCHRCO_2H$, в соответствующий азид, хлорангидрид, смешанный ангидрид, «активированный эфир», производное карбодиимида или в другое промежуточное соединение с последующей реакцией такой активированной карбоксильной группы со свободной аминогруппой другого компонента, например $NH_2CHR'CO_2Et$. Метод можно иллюстрировать следующей схемой:

$$\underset{\text{V}}{C_6H_5CH_2OCO—NHCHRCON_3} + \underset{\text{VI}}{NH_2CHR'CO_2Et} \longrightarrow$$

$$\longrightarrow \underset{\text{VII}}{C_6H_5CH_2OCO—NHCHRCO—NHCHR'CO_2Et} + \underset{\text{VIII}}{HN_3}$$

Образование пептидной связи может быть также достигнуто активацией аминогруппы аминоэфира (IX) путем реакции с такими агентами, как фосген, треххлористый фосфор или тетраэтилпирофосфит, с последующей обработкой «активированного амина» (X) ациламинокислотой, например:

$$\underset{\text{IX}}{NH_2CHR'CO_2Et} \xrightarrow{COCl_2} \underset{\text{X}}{OCN\cdot CHR'CO_2Et} \xrightarrow{C_6H_5CH_2OCO-NHCHRCO_2H}$$

$$\longrightarrow \underset{\text{XI}}{C_6H_5CH_2OCO—NHCHRCO—NHCHR'CO_2Et}$$

г) *Удлинение пептидной цепи.* К ацилдипептиду или его производному аналогичным образом (см. «в») могут быть присоединены другие остатки

аминокислот после соответствующей активации или С-концевой карбоксильной группы (XII), например:

$$\underset{\text{XII}}{-CO_2Et} \xrightarrow{NH_2NH_2} \underset{\text{XIII}}{-CONHNH_2} \xrightarrow{HNO_2} \underset{\text{XIV}}{-CON_3} \xrightarrow{NH_2CHRCO_2Et} \underset{\text{XV}}{-CONHCHRCO_2Et}$$

или аминокомпоненты (XVII), образующейся при селективном удалении ацильной группы, например:

$$\underset{\text{XVI}}{C_6H_5CH_2OCO-NHCHRCO-} \xrightarrow{H_2} \underset{\text{XVII}}{NH_2CHRCO-} \xrightarrow{COCl_2} \underset{\text{XVIII}}{OCN\cdot CHRCO-} \xrightarrow{RCO_2H} \underset{\text{XIX}}{RCONHCHRCO-}$$

д) *Удаление защитных группировок.* После получения защищенного пептида удаление защитных групп с обоих концов пептидной цепи (XX) приводит к образованию свободного пептида (XXII), например:

$$\underset{\text{XX}}{C_6H_5CH_2OCO-NHCHRCO-NHCHR'CO_2Et} \xrightarrow{NaOH}$$

$$\longrightarrow \underset{\text{XXI}}{C_6H_5CH_2OCO-NHCHRCO-NHCHR'CO_2H} \xrightarrow{H_2} \underset{\text{XXII}}{NH_2CHRCO-NHCHR'CO_2H}$$

Приведенное обсуждение дает весьма упрощенную картину методов, обычно используемых в пептидном синтезе с различными аминокислотами. В действительности, эта картина становится значительно более сложной в синтезах, где необходимо учитывать возможность рацемизации оптически активных компонентов, а также в синтезах с аминокислотами, имеющими реакционноспособные основные или кислотные группы, например в случае лизина, гистидина и аргинина или глутаминовой и аспарагиновой кислот соответственно. Еще большие осложнения вносит присутствие гидроксильных групп треонина, серина, оксипролина и оксилизина и атомов серы цистина и метионина. Новые методы пептидного синтеза, применимые к каждой из этих аминокислот, а также известные ограничения при их использовании будут детально обсуждены ниже.

Защита аминогруппы

Для успешного применения в пептидном синтезе N-защитная группа должна удовлетворять следующим требованиям: а) соответствующее ацильное производное аминокислоты должно быть легко доступным с использованием обычных методов органической химии; б) ацилирование должно протекать с высоким выходом; в) условия ацилирования не должны приводить к рацемизации при синтезах с оптически активными аминокислотами; г) получаемые ацилированные аминокислоты должны легко кристаллизоваться для облегчения их очистки и идентификации; д) ацильная защитная группа должна быть стабильной в условиях, используемых для связывания с другими аминокислотными остатками; е) в завершающей стадии пептидного синтеза ацильная защитная группа должна избирательно сниматься в условиях, не вызывающих рацемизации или деструкции лабильной молекулы пептида; ж) удаление ацильной группы не должно сопровождаться образованием побочных продуктов, затрудняющих очистку полученного соединения. В период с 1926 по 1949 г. были найдены лишь *п*-толуолсульфонильная [127] и карбобензокси- [128] группы, которые по своим свойствам удовлетворяют этим жестким требованиям. Однако после 1949 г. в синтетическую пептидную химию с различной степенью успеха были введены несколько других

Толуолсульфонильные производные аминокислот

Толуолсульфонил(тозил)аминокислоты	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература[г]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Тозил-DL-аланин	138—139	—	—	—	*424*, 425
Тозил-L-аланин	134—135	—6,8	20	3,1%, этанол	*420*, 424, 425
Тозил-β-аланин	119,5—121	—	—	—	426
Тозил-DL-α-амино-*н*-масляная кислота	152—153	—	—	—	427
Тозил-α-аминоизомасляная кислота	149—150	—	—	—	*427*, 428
α-Тозил-DL-аргинин	>330	—	—	—	429
α-Тозил-L-аргинин	256—257 (с разл.)	—	—	—	*422*, 429
α-Тозил-L-аргинин·HBr	197—199 (с разл.)	—	—		429
Тозил-L-аспарагиновая кислота	139—140	—	—	—	430, *431*
Тозил-S-бензил-L-цистеин	125—126	+11,3	21	2%, 95% этанол	440, *432*, 432а
бис-Тозил-L-цистин	204—205	—	—	—	425, *430*
α-Тозил-γ-карбобензокси-L-α,γ-диаминомасляная кислота	149,5—150,5	—	—	—	429
Тозил-DL-глутаминовая кислота	172	—	—	—	*434*, 433
Тозил-D-глутаминовая кислота	142—145	—	—	—	433
Тозил-L-глутаминовая кислота	131[а]	+22,0	—	1%, этанол	434
Тозил-D-глутамин	166	—	—	—	433
Тозил-L-глутамин	165—166	+8,7	21	2,4%, 0,5 н. $KHCO_3$	*435*, 436
Тозилглицин	149—150	—	—	—	425, *430*, 437
Тозил-L-гистидин	202—204	—	—	—	425
N-Тозил-L-оксипролин	153	—	—	—	425
O-Тозил-L-оксипролин	163—165	—	—	—	390а
Тозил-DL-изолейцин	141	—	—	—	*146*, 425
Тозил-L-изолейцин	135—136	—12,3	21	2%, 0,5 н. $KHCO_3$	425, *438*
Тозил-L-лейцин	124	+4,5	20	9%, этанол	*420*, 425, 439
α-Тозил-L-лизин	263—264	—	—	—	439а, *439б*
ε-Тозил-L-лизин	237—238 (с разл.)	+13,6	21	3,2%, 1 н. HCl	393
α-Тозил-L-лизин·HCl	187—188	—	—	—	439б
α-Тозил-ε-карбобензокси-L-лизин	123—124	—	—	—	*429*, 439а
Тозил-DL-метионин	104—105	—	—	—	425
Тозил-DL-норлейцин	124	—	—	—	425
α-Тозил-DL-орнитин	212,5—213,5 (с разл.)	—	—	—	429
δ-Тозил-L-орнитин	212 (с разл.)	+20,8	23	2%, 6 н. HCl	423
α-Тозил-L-орнитин·$^1/_2$ H_2O	212—213 (с разл.)	—	—	—	439б
α-Тозил-δ-карбобензокси-DL-орнитин	134—135	—	—	—	429
α-Тозил-δ-карбобензокси-L-орнитин	120,5—121,5	—	—	—	429
Тозил-DL-фенилаланин	134—135	—	—	—	425
Тозил-D-фенилаланин	164—165	+2,4	19	7,6%, ацетон	*420*, 425, 440
Тозил-L-фенилаланин	164—165	—2,1	20	7,5%, ацетон	420
Тозил-DL-пролин	130—133	—	—	—	441, *442*
Тозил-L-пролин·H_2O	58—60	—163,0	24	2,3% H_2O+2 экв. NaOH	442, *443*
Тозил-DL-серин	212—213 (с разл.)	—	—	—	425
Тозил-L-серин	235—236	—32,3	25	2,0%, пиридин	444
Тозил-DL-треонин	181—182	—	—	—	445
Тозил-D-треонин	136—137	—14,7	18	2%, метанол	445
Тозил-L-треонин	136—137	+14,8	18	2%, метанол	445
Тозил-L-триптофан	176	—	—	—	430
N-Тозил-L-тирозин	187—188	—8,6	20	6,7%, 0,5 н. NaOH	420
O-Тозил-L-тирозин	218 (с разл.)	—11,7	17	6,2%, 1 н. NaOH[б]	*126*, 446
O,N-Дитозил-L-тирозин	117—119	—	—	—	126, *430*
Тозил-L-валин	147	+25,0	20	—[в], этанол	421, 425, *430*
Тозил-DL-валин	166—167	—	—	—	427

[а] Для этого соединения приведены также температуры плавления 115—117° [447], 135° [448] и 145—146° [436].

[б] $[\alpha]_D^{22}$+9,0° (3% в 1 н. HCl) [446].

[в] Концентрация не указана.

[г] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

N-защитных групп. Некоторые из ацилированных аминокислот, содержащие наиболее широко применяемые защитные группы, а также методы синтеза этих соединений подробно описаны ниже.

13. *п*-Толуолсульфонильная группа. Эта защитная группа, чаще называемая тозильной, была первой селективно удаляемой ацильной группой, успешно примененной в синтезе пептидов. Введение тозильной группы Шёнхеймером [127] в 1926 г. было обусловлено избирательным расщеплением ее амидной связи с остатком аминокислоты при действии смеси иодистого фосфония с иодистоводородной кислотой. Получение тозиламинокислот (III), применяемых в пептидном синтезе, обычно осуществляется действием на соответствующую аминокислоту *п*-толуолсульфохлорида (I) в щелочном растворе, согласно общему методу Фишера и Липшица [420] (методика 25). Реакция, по-видимому, не сопровождается заметной рацемизацией [420]. В табл. 69 приведены несколько тозиламинокислот, полученных таким методом.

$$\underset{\text{I}}{CH_3C_6H_4SO_2Cl} + \underset{\text{II}}{NH_2CHRCO_2H} \xrightarrow[\text{2. HCl}]{\text{1. Водн. NaOH}} \underset{\text{III}}{CH_3C_6H_4SO_2{-}NHCHRCO_2H}$$

Типичная методика 25 [421]. Тозил-L-валин (III; R = $(CH_3)_2CH$ —). К раствору 5 *г* L-валина в 55 *мл* 1 н. едкого натра добавляют 11 *г* твердого *п*-толуолсульфохлорида; смесь интенсивно перемешивают при комнатной температуре в течение 3 *час*, избыток хлорангидрида отфильтровывают и фильтрат подкисляют разбавленной соляной кислотой (по конго красному). Тозил-L-валин, осаждающийся в виде белого кристаллического осадка, отфильтровывают, промывают водой и высушивают. Кристаллизация из смеси этилацетата с легким петролейным эфиром дает 6,8 *г* вещества (в виде прямоугольных пластинок); т. пл. 144°.

Другая методика, сравнительно недавно описанная Теодоропулосом и Крэйгом [439], позволяет избежать применения крепкой щелочи (методика 26).

Типичная методика 26 [439]. Тозил-L-лейцин. К смеси 8 *мл* воды, 4 *мл* тетрагидрофурана, 1,6 *г* триэтиламина и 0,65 *г* L-лейцина добавляют небольшими порциями при перемешивании (0,5 *час*) 1,45 *г* тозилхлорида. После растворения аминокислоты (45 *мин*) тетрагидрофуран отгоняют в вакууме и к оставшемуся раствору добавляют 10 *мл* воды. Раствор дважды промывают эфиром и осаждают тозил-L-лейцин путем подкисления соляной кислотой. Перекристаллизацию проводят из водного этанола; выход 1 *г*, т. пл. 120—122°.

Описанная выше методика с небольшими изменениями (количества применяемых реагентов, растворитель для кристаллизации, очистка конечного продукта) в основном может быть использована для получения всех тозиламинокислот, перечисленных в табл. 69 с некоторыми исключениями, например для производных глутамина, ε-тозиллизина, δ-тозилорнитина и О-тозилтирозина. Следует иметь в виду, что количества реагентов, необходимых для получения этих производных, зависят от природы используемой аминокислоты и образующегося производного. В частности, для таких аминокислот, как аспарагиновая кислота, требуется дополнительный эквивалент щелочи для компенсации еще одной кислотной группы, в то время как образование дитоэильного производного тирозина предполагает использование двух эквивалентов тозилхлорида с соответствующим увеличением количества

щелочи для ацилирования фенольного гидроксила и аминогруппы; на стадии подкисления при синтезе α-тозиларгинина вместо соляной кислоты используют уксусную кислоту [422]. Хотя, в сущности, δ-тозилорнитин и ε-тозиллизин могут быть синтезированы по вышеописанной методике, синтез должен проводиться с медными комплексами этих аминокислот для предотвращения ацилирования α-аминогруппы с последующим удалением ионов меди сероводородом перед выделением конечного продукта реакции [393, 423]. Получение О-тозилтирозина достигается путем избирательного отщепления N-тозильной группы О,N-дитозилтирозина при действии смеси иодистого фосфония и иодистоводородной кислоты при 100° [126].

14. Карбобензокси- и родственные ей группы. Бергман и Зервас [128], обратившие внимание на легкое отщепление О- и N-бензильных групп при каталитическом гидрировании [449—451], изучили бензильный аналог карбэтоксигруппы (безуспешно использовавшейся Фишером) в качестве селективно удаляемой ацильной защитной группы. Так была открыта великолепная защитная группа, оказавшаяся универсальной и чрезвычайно широко используемой в синтезе пептидов. Ацилирующий агент (VI), примененный Бергманом и Зервасом [128] для карбобензоксилирования аминокислот, был получен действием бензилового спирта (IV) на охлажденный раствор фосгена (V) в толуоле с последующим удалением толуола при пониженном давлении. Бензилхлоркарбонат (бензилхлорформат), полученный таким образом, чаще называют карбобензоксихлоридом. Его синтез путем прямого взаимодействия фосгена с бензиловым спиртом в условиях низкой температуры сравнительно недавно описан Фартингом [387] (методика 27). Использование этого метода в лаборатории автора позволило сравнительно легко получить сразу 20 *кг* хлорангидрида.

$$\underset{\text{IV}}{C_6H_5CH_2OH} + \underset{\text{V}}{COCl_2} \rightarrow \underset{\text{VI}}{C_6H_5CH_2OCOCl} + \underset{\text{VII}}{HCl}$$

Типичная методика 27. Карбобензоксихлорид (VI). Метод Фартинга [387], проверенный в лаборатории автора, состоит в следующем. *Все операции должны проводиться под тягой.* В открытую взвешенную 5-литровую трехгорлую круглодонную колбу, снабженную газоприводной трубкой, термометром и механической мешалкой, помещают 2 *кг* бензилового спирта. Температуру понижают затем примерно до —10° путем использования бани с этанолом и сухим льдом (*внимание*: чистый бензиловый спирт замерзает при температуре от —15 до —16°) и при интенсивном перемешивании пропускают ток фосгена. После введения некоторого количества фосгена скорость пропускания газа должна быть отрегулирована таким образом, чтобы поддерживать температуру внутри смеси в пределах от —10 до —30°. После введения около 2 *кг* фосгена, что определяется периодическим взвешиванием колбы с содержимым, убирают термометр и охлаждающую баню и смесь интенсивно перемешивают до постепенного достижения ею комнатной температуры. Этот процесс сопровождается выделением хлористого водорода и избытка фосгена. Затем через перемешиваемую смесь в течение 24 *час* пропускают ток сухого воздуха, убирают мешалку и трубку для подачи газа и колбу эвакуируют в течение 5 *мин* на водоструйном насосе. Бесцветную (иногда слегка желтоватую) жидкость высушивают сульфатом натрия, фильтруют и хранят в закрытом стеклянном сосуде над сульфатом натрия. Обычно с выходом 95—99% получают практически чистый карбобензоксихлорид. Следы хлорангидрида на стеклянной посуде, аппаратуре и т. п. могут быть разрушены осторожной обработкой водным или этанольным раствором аммиака.

Таблица 70

Карбобензоксипроизводные аминокислот

Карбобензоксипроизводные	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [в]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Карбобензокси-DL-аланин	114—115	—	—	—	128
Карбобензокси-D-аланин	87	+14,0	27	2%, CH_3COOH	*359*, 466—469
Карбобензокси-L-α-аланин	87	−13,9	27	2%, CH_3COOH	128, *359*
Карбобензокси-L-α-амино-*н*-масляная кислота	78—79	−32	16	2,8%, этанол	58
Карбобензокси-α-аминоизомасляная кислота	78	—	—	—	466
Карбобензокси-DL-аминотрикарбаллиловая кислота	134	—	—	—	470
Карбобензокси-DL-*алло*-аминотрикарбаллиловая кислота	178	—	—	—	470
α-Карбобензокси-L-аргинин	175	−9,2	20	5,5%, 0,2 н. HCl	*128*, 459
ω-Карбобензокси-L-аргинин	190	+9,5	25	6,1%, H_2O+1 экв. HCl	459
α,ω-Дикарбобензокси-L-аргинин	150	−10,0	25	1%, пиридин	*458*, 459
ω,ω-Дикарбобензокси-L-аргинин	160	—	—	—	459
α,ω,ω-Трикарбобензокси-L-аргинин	138—139	+15,5	25	1%, хлороформ	*458*, 459
α-Карбобензокси-L-аргинин (бромгидрат)	177—179,5	−6,9	24	2%, H_2O	*471*, 471а
Карбобензокси-L-аспарагин	165	+7,6	18	1,6%, CH_3COOH	*128*, 364, 472
Карбобензокси-L-аспарагиновая кислота	116	+9,6	18	7,1%, CH_3COOH	128
Карбобензокси-S-бензил-D-цистеин	—	+45,1	26	2%, ацетон	473
Карбобензокси-S-бензил-L-цистеин	99	—	—	—	365, 390, 474, *475*
S-Карбобензокси-L-цистеин	177	−50,0	20	1%, CH_3COOH	365
N,S-Дикарбобензокси-L-цистеин	97—98	−32,4	20	8,5%, CH_3COOH	365
бис-Карбобензокси-L-цистин	123	−91,7	20	6,7%, CH_3COOH	*128*, 476, 477
моно-Карбобензокси-L-цистин	—	−126	23	1%, 5 н. HCl	299
γ-Карбобензокси-L-α,γ-диаминомасляная кислота	235—236 (с разл.)	—	—	—	429
Дикарбобензокси-*мезо*-α,ε-диаминопимелиновая кислота	123—125	—	—	—	478
Дикарбобензокси-DL-α,ε-диаминопимелиновая кислота	164—165	—	—	—	478
Дикарбобензокси-DL-α,β-диаминопропионовая кислота	150—151	—	—	—	366
Карбобензокси-DL-глутаминовая кислота	120	—	—	—	479, *480*
Карбобензокси-L-глутаминовая кислота	120—121	−7,1	19	8%, CH_3COOH	*128*, 475
Карбобензокси-L-глутамин	135	+5,8	20	2%, этанол	128, *472*, 481—482а
Карбобензоксиглицин	120	—	—	—	128
Карбобензокси-DL-гистидин	209—210 (с разл.)	—	—	—	128, *483*
Карбобензокси-L-гистидин	166—167 (с разл.)	−25,0	22	6%, 6 н. HCl	483
Карбобензокси-L-1-бензилгистидин	216 (с разл.)	—	—	—	*369*, 484
im, N-Дикарбобензокси-L-гистидин·1 CH_3OH	105—107 (с разл.)	+15,3	20	6,3%, ацетон—метанол (4:1)	483
im, N-Дикарбобензокси-L-гистидин·H_2O	103—105 (с разл.)	+34,0	14	2,9%, этилацетат	841
Карбобензокси-γ-окси-DL-глутаминовая кислота	132—133	—	—	—	485
Карбобензокси-5-окси-L-пипеколиновая кислота	150—152	−17,9	20	1%, ацетон	487
Карбобензокси-L-оксипролин	106—107	−72,0	20	1%, хлороформ	486, *487*
Карбобензокси-D-*алло*-оксипролин	110,5—111,5	+26,3	20	1%, хлороформ	487
Карбобензокси-L-*алло*-оксипролин	110—111	−23,7	20	1%, хлороформ	487
N-Карбобензокси-O-тозил-L-*алло*-оксипролин	100—101,5	−20,0	—	1%, метанол	487
Карбобензокси-D-*алло*-изолейцин	65	−15,8	27	2%, ацетон	454
Карбобензокси-L-*алло*-изолейцин	65	+16,0	27	2%, ацетон	454
Карбобензокси-DL-лейцин	52—55	—	—	—	*486*, 488
Карбобензокси-DL-*трет*-лейцин	88	—	—	—	371
ε-Карбобензокси-L-лизин	255	+14,4	—	1,6%, 2 экв. HCl	358, *457*
α,ε-Дикарбобензокси-L-лизин	150[а]	—	—	—	*358*, 471а
α-Карбобензокси-ε-тозил-L-лизин	85—88	−13,3	21	1%, 5% $NaHCO_3$	393
Карбобензокси-DL-метионин	112	—	—	—	489
Карбобензокси-D-метионин	69—70	—	—	—	489
Карбобензокси-L-метионин	68—69	−31,6	21	1%, метанол	444, *490*
Карбобензоксинитро-L-аргинин	134—136	−3,5	27	1%, метанол	*491*, 492
α-Карбобензокси-L-орнитин·HCl	187—189	−11,5	25	1%, H_2O	904
δ-Карбобензокси-DL-орнитин	256	—	—	—	*421*, 429

Продолжение табл. 70

Карбобензоксипроизводные	Т. пл. °С	Удельное вращение			Литература [в]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
δ-Карбобензокси-L-орнитин	254	+17,0	16	2,9%, 50% ацетон + +2 экв. HCl	373, *421*
		+5,0	25	2%, 1 н. NaOH	613
α,δ-Дикарбобензокси-DL-орнитин	110—112	—	—	—	372
α,δ-Дикарбобензокси-L-орнитин	112—114	—4,0	20	3%, этанол	*373*, 421
Карбобензокси-S-бензил-DL-пенициллами́н	81	—	—	—	299
Карбобензокси-S-метил-DL-пенициллами́н	89	—	—	—	299
Карбобензокси-DL-фенилаланин	103	—	—	—	128
Карбобензокси-D-фенилаланин	88—89 [б]	—4,6	24	4%, CH_3COOH	469
Карбобензокси-L-фенилаланин	88—89 [б]	+5,1	20	2%, этанол	*486*, 493, 494, 495
Карбобензокси-L-пролин	76—77	—61,7	20	5,3%, CH_3COOH	*375*, 393, 486, 487, 496
Карбобензокси-4-кето-D-пролин	99—100	—19,4	20	1%, хлороформ	487
Карбобензокси-4-кето-L-пролин	101—102	+18,5	20	1%, хлороформ	487
Карбобензоксисаркозин	53—54	—	—	—	357
Карбобензокси-DL-серин	125	—	—	—	*128*, 377, 497, 498
Карбобензокси-D-серин	119	—5,6	—	7%, CH_3COOH	*499*, 500
Карбобензокси-L-серин	121	+5,6	32	6%, CH_3COOH	471a, 480, 499, *501*, 502
O-Карбобензокси-DL-серин	132	—	—	—	377
O,N-Дикарбобензокси-DL-серин	94	—	—	—	377, *503*
N-Карбобензокси-O-ацетил-DL-серин	116—118	—	—	—	377
N-Карбобензокси-O-бензил-DL-серин	99—100	—	—	—	*398*, 504, 829
Карбобензокси-DL-треонин	74—75	—	—	—	498
Карбобензокси-L-треонин	103—104	—5,5	28	4%, CH_3COOH	504a
Карбобензокси-DL-триптофан	169—170	—	—	—	505
Карбобензокси-L-триптофан	126	—	—	—	505
N-Карбобензокси-DL-тирозин	124	—	—	—	379
N-Карбобензокси-L-тирозин	101	+11,1	20	3%, CH_3COOH	128
O-Карбобензокси-L-тирозин	215 (с разл.)	—	—	—	369
O,N-Дикарбобензокси-DL-тирозин	106	—	—	—	379
O,N-Дикарбобензокси-L-тирозин	117	—5,0	20	10%, CH_3COOH	379
N-Карбобензокси-O-ацетил-L-тирозин	120—121	—	—	—	378
N-Карбобензокси-O-тозил-L-тирозин	124—126	—27	25	1%, диметилформамид	446
Карбобензокси-DL-валин	76—78	—	—	—	357, 380, *488*, 506
Карбобензокси-L-валин	66—67	+0,1	20	2,0%, этанол	373, *486*, 507, 508

[а] $[\alpha]_D^{21}$ —7,8° (2,0%, в пиридине), т. пл. 80° [471a].

[б] Р. Холли и А. Холли [494] предположили, что кристаллические карбобензокси D- и L-фенилаланины с т. пл. 126—128° [496, 493] являются в действительности не индивидуальными веществами, в то время как чистые вещества представляют собой масла. Такое предположение было основано на том, что эквивалент нейтрализации первого соединения был равен приблизительно 370 при вычисленном значении 299. При очистке этого вещества путем тщательного промывания его эфирного раствора 1 н. соляной кислотой и затем водой было получено масло, эквивалент нейтрализации которого был равен 310. Однако Клейтон, Фаррингтон, Кеннер и Тернер [495] показали, что очистка L-формы противоточным распределением приводит к выделению вещества с т. пл. 87° и эквивалентом нейтрализации 298. В более поздней работе Грассмана и Вюнша [486] было установлено, что в указанном соединении в виде примеси присутствует натриевая соль соответствующей карбобензоксиаминокислоты, причем для получения чистого вещества необходимо сильно подкислять реакционную смесь при получении карбобензоксипроизводного по методу Шоттена—Баумана и затем экстрагировать карбобензокси-L-аминокислоту этилацетатом; для чистого соединения была приведена температура плавления 88—89° и $[\alpha]_D^{20}$ +5,1 (2%, в спирте).

[в] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

Карбобензоксихлорид, полученный вышеописанным способом, может быть далее очищен перегонкой в высоком вакууме (при температуре масляной бани 85°). Несмотря на ряд противоположных утверждений, карбобензоксихлорид не обладает заметно большей нестабильностью, чем хлорангидриды обычных жирных кислот. Хотя его продолжительное хранение может сопровождаться слабым разложением с одновременным образованием углекислого газа и хлористого водорода, эти газы могут быть легко удалены продуванием тока сухого воздуха в течение нескольких часов и фильтрованием; продукт реакции высушивают затем свежей порцией безводного сульфата натрия. Однако, несмотря на заметное разложение, реагент хранился в лаборатории автора при комнатной температуре в течение примерно года без существенного снижения общей активности.

Конденсация карбобензоксихлорида (VIII) с аминокислотой (IX) с образованием карбобензоксиаминокислоты (X) обычно проводится по общему методу Шоттена — Баумана (методики 28 и 29). В противоположность рацемизации, иногда наблюдаемой в случае других ацилирующих агентов, таких, как уксусный ангидрид [297, 452], бензойный ангидрид [297] или кетен [453], использование карбобензоксихлорида не вызывает никакой заметной инактивации при работе с оптически активными аминокислотами. Производные, как правило, образуются с очень высоким выходом (около 70—95% теории) и, за исключением изолейцина и оптически активных форм лейцина, легко получаются в кристаллическом состоянии. Физические константы карбобензоксипроизводных некоторых аминокислот приведены в табл. 70.

$$\underset{\text{VIII}}{C_6H_5CH_2OCOCl} + \underset{\text{IX}}{NH_2CHRCO_2H} \xrightarrow[NaHCO_3]{NaOH\ \text{или}} \underset{\text{X}}{C_6H_5CH_2OCO-NHCHRCO_2H}$$

Типичная методика 28 [128]. Карбобензоксиглицин (X; R = H). Раствор 7,5 *г* (0,1 моля) глицина в 25 *мл* 4 н. едкого натра (0,1 моля) охлаждают до 5° и к нему при энергичном встряхивании и охлаждении на бане со льдом добавляют попеременно пятью примерно равными порциями (через 20—30 *мин*) 30 *мл* 4 н. едкого натра (0,12 моля) и 18,7 *г* (0,11 моля) карбобензоксихлорида (см. методику 27). *Реакционная смесь в течение всего времени должна оставаться слабощелочной, причем в случае необходимости можно дополнительно добавлять щелочь.* После завершения реакции раствор однократно экстрагируют 20 *мл* эфира для удаления избытка хлорангидрида и водную фазу при охлаждении льдом осторожно подкисляют (по конго красному) 5 н. соляной кислотой. После дальнейшего охлаждения на бане со льдом (около 15 *мин*) кристаллический карбобензоксиглицин отфильтровывают и высушивают. Кристаллизацию проводят из хлороформа. Выход 70—80% теории; т. пл. 120° (исправленная).

Типичная методика 29 [454]. Карбобензокси-L-*алло*-изолейцин. Карбобензоксилирование 13,1 *г* (0,1 моля) L-*алло*-изолейцина проводится тем же способом, что и в случае глицина (методика 28). После подкисления 5 н. соляной кислотой выделяется масло, которое экстрагируют этилацетатом; этилацетатный раствор высушивают безводным сульфатом натрия и затем концентрируют в вакууме при 40° до образования маслянистого остатка. Кристаллизацию проводят из этилацетата с добавлением петролейного эфира. Выход 76%; т. пл. 65°; $[\alpha]_D^{27}$ + 16° (2%, в ацетоне). Карбобензоксипроизводные L- и D-форм лейцина [455] и изолейцина [454, 465] могут быть получены аналогичным образом. Однако поскольку эти соединения до сих пор были

изолированы лишь в виде некристаллизующихся масел, их высушивают и хранят в таком виде в вакууме над фосфорным ангидридом.

Упрощенный вариант удобного метода Шоттена — Баумана был успешно применен в лаборатории автора для получения большого числа различных карбобензоксиаминокислот. Этот метод в принципе состоит в обработке бикарбонатного раствора аминокислоты (IX) хлорангидридом (VIII) *при комнатной температуре* (методика 30). Поддержание pH раствора в слабощелочной области с помощью бикарбоната натрия делает ненужной утомительную процедуру попеременного добавления хлорангидрида и щелочи, обычно используемую в методе Шоттена — Баумана. Выходы, температуры плавления и величины оптического вращения образующихся продуктов реакции вполне согласуются с характеристиками соединений, получаемых традиционным методом.

Типичная методика 30. Карбобензокси-L-треонин. К суспензии 42 *г* (0,5 моля) бикарбоната натрия в 250 *мл* воды (в стакане емкостью 1 *л*) добавляют 23,8 *г* (0,2 моля) L-треонина, смесь интенсивно перемешивают механической мешалкой и в течение 30 *мин* добавляют пятью примерно равными порциями 37,4 *г* (0,22 моля) карбобензоксихлорида. Перемешивание продолжают еще 1 *час*, затем смесь экстрагируют 50 *мл* эфира, водную фракцию при охлаждении и перемешивании осторожно подкисляют (по конго) путем добавления по каплям 5 н. соляной кислоты и образующееся масло экстрагируют этилацетатом. После высушивания безводным сульфатом натрия этилацетатный раствор упаривают досуха в вакууме при 40°, оставшееся масло экстрагируют абсолютным эфиром и вызывают кристаллизацию путем добавления петролейного эфира (для начала кристаллизации иногда необходимо охлаждение и периодическое потирание стеклянной палочкой). Перекристаллизация из смеси эфира с петролейным эфиром дает с 75—85%-ным выходом карбобензокси-L-треонин; т. пл. 105—106°.

За исключением δ-карбобензоксиорнитина, ε-карбобензоксилизина, O-карбобензокситирозина, монокарбобензоксицистина и ω-моно-, α,ω-ди- и α,ω,ω-трикарбобензоксипроизводных аргинина, большинство соединений, перечисленных в табл. 70, можно получить по методикам 28—30 или путем некоторого видоизменения этих методик. Кроме того, первые три из перечисленных выше соединений, вообще говоря, могут быть синтезированы с использованием методики 28, принимая во внимание, что карбобензоксилирование должно проводиться с медными комплексами соответствующих аминокислот во избежание ацилирования α-аминогруппы [369, 373, 421, 457]. Монокарбобензоксилирование цистина можно осуществить аналогичным образом в условиях Шоттена — Баумана с использованием большого избытка аминокислоты [299]. Наконец, синтез α,ω,ω-трикарбобензоксиаргинина можно провести обработкой аргинина хлорангидридом в сильно щелочном растворе, тогда как при избирательном гидролизе этого соединения образуется α,ω-дикарбобензоксипроизводное [458]. Превращение α,ω-дикарбобензоксиаргинина в N-карбоксиангидрид ω-карбобензоксиаргинина и разложение последнего водой приводят к ω-монокарбобензоксиаргинину [459].

Начиная с 1950 г. в синтетической пептидной химии были введены некоторые ацильные защитные группы, родственные карбобензоксигруппе. Причины, побудившие исследовать такие группы, заключались в предполагаемой нестабильности карбобензоксихлорида при его длительном хранении, а также в том, что некоторые карбобензоксиаминокислоты представляли собой некристаллизующиеся масла. Одной из первых была предложена ана-

логичная по структуре карбоаллилоксигруппа, которая, как было показано Стивенсом и Ватанабэ [460], может быть селективно удалена некоторыми из методов, применимых к карбобензоксигруппе, однако уступает последней как в силу меньшей универсальности по отношению ко всем методам расщепления, так и по способности давать кристаллические производные. Годом позже Ченнинг, Тэрнер и Янг [461] опубликовали предварительное сообщение о применении для этой цели карбо-α-нафтилметокси-, карбо-*п*-толилокси- и карбо-*п*-бромбензилоксигрупп. Хотя было высказано предположение, что последняя группа может иметь некоторые преимущества ввиду легкости получения соответствующих производных в кристаллической форме, с тех пор не появлялось других сообщений относительно ее применения в синтезе пептидов. Более широкое применение получила *п*-нитрокарбобензоксигруппа (n-$NO_2C_6H_4CH_2OCO$ —), введенная Карпентером и Гишем [462] в 1952 г. Главное преимущество этой группы состоит в ее способности давать кристаллические производные с теми аминокислотами, соответствующие карбобензоксипроизводные которых обычно являются некристаллизующимися маслами. Однако, согласно данным автора, эта защитная группа в отличие от карбобензоксигруппы вносит по крайне мере два ограничения, а именно: а) невозможность использования обычного метода Кьельдаля для определения азота вследствие наличия нитрогруппы и б) образование при восстановительном отщеплении этой группы нелетучего *п*-толуидина, приводящего к возможному загрязнению конечного продукта. Тем не менее *п*-нитрокарбобензоксигруппа была успешно использована в одном из первых синтезов пептидов с N-концевым аргинином [463], а также оказалась весьма ценной в получении других пептидов. Подробности приготовления *п*-нитрокарбобензоксихлорида (методика 31) и использования этого реагента для синтеза *п*-нитрокарбобензоксиаминокислот (методика 32) приведены ниже.

Типичная методика 31 [462]. *п*-Нитрокарбобензоксихлорид (*п*-нитробензилхлорформат). В 180 *мл* охлажденного очищенного диоксана пропускают ток сухого фосгена до поглощения 174 *г* $COCl_2$. К полученному раствору добавляют раствор 60 *г* *п*-нитробензилового спирта в 75 *мл* диоксана. Реакционный сосуд закрывают корковой пробкой и смесь оставляют на ночь при комнатной температуре, после чего концентрируют в вакууме при температуре бани не выше 50°. После добавления свежей порции диоксана смесь вновь концентрируют и эту операцию повторяют еще несколько раз. *Все работы должны проводиться весьма осторожно под мощной тягой.* Полученный маслянистый остаток немедленно растворяют в 120 *мл* толуола, раствор охлаждают до 0°, добавляют около 150 *мл* петролейного эфира до появления опалесценции и инициируют кристаллизацию путем трения стеклянной палочкой о стенки сосуда. Затем добавляют еще 400 *мл* петролейного эфира, смесь охлаждают до —50°, отфильтровывают кристаллы, тщательно промывают их сначала смесью толуола с петролейным эфиром, а затем только петролейным эфиром и, наконец, высушивают в вакууме над пятиокисью фосфора; выход 80 *г* (95%), т. пл. 33,5—34°.

Типичная методика 32 [462]. *п*-Нитрокарбобензоксиглицин. К охлажденному льдом раствору 3,78 *г* глицина в 15,6 *мл* 4 н. едкого натра попеременно добавляют пятью примерно равными порциями (с интервалами около 5 *мин*) холодный раствор 13,5 *г* *п*-нитрокарбобензоксихлорида (методика 31) в 32 *мл* диоксана и 15,6 *мл* холодного 4 н. едкого натра; при этом реакционную смесь механически встряхивают или интенсивно перемешивают в аппаратуре, дающей возможность одновременного охлаждения в бане со льдом. После окончания добавления реагентов смесь перемешивают еще 1 *час* и отфильтровывают образовавшийся при реакции в качестве побочного продукта кристаллический ди-*п*-нитробензилкарбонат. Фильтрат подкисляют концентрированной соляной кислотой и выделившееся масло экстрагируют этилацетатом (3 × 35 *мл*). Объединенный этилацетатный экстракт промывают 1 н. соляной кислотой и продукт реакции извлекают 1 н. раствором бикарбоната натрия. Щелочной раствор несколько раз промывают этилацетатом, обрабатывают активированным углем для обесцвечивания и при охлаждении льдом подкисляют концентрированной соляной кислотой. Полученный кристаллический продукт (9,93 *г*) после перекристаллизации из воды (1,8 *г* на 10 *мл* растворителя) имеет т. пл. 122,5—124°. Аналогичная методика, с некоторыми видоизменениями, может быть использована для получения других *п*-нитрокарбобензоксиаминокислот.

Необходимо отметить, что Мак-Кей и Альбертсон [464] в 1957 г. предложили ряд карбалкоксильных защитных групп, родственных карбобензоксигруппе, а именно: карбо-*трет*-бутилокси-, карбоциклопентилокси-, α,ε-дикарбоциклопентилокси-, карбоциклогексилокси-, карбо-*п*-метоксибензилокси- и карбодиизопропилметоксигруппы. В том же году карбо-*трет*-бутилоксигруппа была независимо введена Андерсоном и Мак-Грегором [465]. Хотя был получен ряд ацилированных аминокислот с вышеуказанными защитными группами и некоторые из них были использованы в пептидном синтезе, до сих пор имеется относительно мало данных, позволяющих точно оценить преимущества и недостатки указанных защитных групп в сравнении с другими применяемыми заместителями*. В табл. 71 приведены физические свойства некоторых ацилированных аминокислот с такого рода защитными группами, а также свойства родственных им карбоаллилокси-, *п*-нитрокарбобензокси- и *п*-хлоркарбобензоксипроизводных.

Особый интерес к предложенным сравнительно недавно Швицером, Зибером и Цацко [514а] *п*-фенилазобензилоксикарбонил-

$$(C_6H_5—N=N—C_6H_4—CH_2OCO—)$$

и *п*(-*п*'-метоксифенилазо)-бензилоксикарбонилгруппам

$$(CH_3O—C_6H_4—N=N—C_6H_4—CH_2OCO—)$$

основан не только на их способности давать стабильные кристаллические производные аминокислот и пептидов, но также связан с окрашенностью этих производных (оранжево-желтые). Следовательно, такие защитные группы позволяют контролировать ход и чистоту продуктов пептидного синтеза путем использования высокочувствительных хроматографических и колориметрических методов. Указанные N-ацилированные аминокислоты получаются взаимодействием соответствующих хлорангидридов с аминокислотой в водно-щелочной среде, в то время как полное удаление защитных групп осуществляется теми же методами, что и в случае карбобензоксипроизводных. Ниже приведены температуры плавления *п*-фенилазобензилоксикарбонильных производных некоторых аминокислот [514а]: L-аланин 158—159°, глицин 179—182°, L-лейцин 109—113°, L-фенилаланин 164—167°, L-пролин 129—132°, L-серин 177—179°, L-триптофан 157—159° и L-валин 124—127°. Температуры плавления различных *п*-(*п*'-метоксифенилазо)-бензилоксикарбониламинокислот: L-аланин 162—164°, L-аргинин (N^{α}) 225°, β-метиловый эфир L-аспарагиновой кислоты 104—106°, γ-метиловый эфир L-глутаминовой кислоты 123—125°, глицин 176—177°, N^{im}-бензил-L-гистидин 225°, L-метионин 130—132°, L-фенилаланин 157—158°, L-пролин 165—167°, L-серин 166—168°, L-триптофан 137—139°, L-валин 134—136°.

*) См. дополнения.

Таблица 71

Карбоаллилокси- и *n*-нитрокарбобензоксиаминокислоты и родственные производные

Ацилированные аминокислоты	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [a]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Карбоаллилоксипроизводные					
Карбоаллилокси-DL-аланин	60—61	—	—	—	460
Карбоаллилокси-DL-лейцин	41—42	—	—	—	460
ε-Карбоаллилокси-DL-лизин	237	—	—	—	460
ε-Карбоаллилокси-L-лизин	225—230	—	—	—	460
Карбоаллилокси-DL-метионин	44—45	—	—	—	460
Карбоаллилокси-DL-фенилаланин	83—84	—	—	—	460
Карбоаллилокси-DL-триптофан	115—116	—	—	—	460
O,N-Дикарбоаллилокси-L-тирозин	105—106	—	—	—	460
n-Нитрокарбобензоксипроизводные					
n-Нитрокарбобензокси-DL-аланин	132,5—134	—	—	—	362
α-*n*-Нитрокарбобензокси-L-аргинин·$^1/_2$ H_2O	193—193,5	+11,8	25	0,5%, диоксан + H_2O (1 : 1)	463
ω-*n*-Нитрокарбобензокси-L-аргинин	140,5—142	+16,8	24	1,0%, 6 н. HCl	463
α, ω-Ди-*n*-нитрокарбобензокси-L-аргинин	180,5—181,5	+6,3	25	1,0%, 0,6 н. HCl + диоксан (1 : 4)	362
n-Нитрокарбобензокси-DL-аспарагин	159—160	—	—	—	509
n-Нитрокарбобензокси-DL-аспарагиновая кислота	150—151	—	—	—	362
n-Нитрокарбобензокси-S-бензил-L-цистеин	132,5—133	—47,0	22	1,0%, 95% этанол	*510*, 511
моно-n-Нитрокарбобензокси-L-цистин	203,5—204,5	—125,2	24	1,0%, 1 н. NaOH	362
бис-n-Нитрокарбобензокси-L-цистин	99—115	—129,8	24	1,0%, 95% этанол	*362*, 512
n-Нитрокарбобензокси-L-глутаминовая кислота	159—161	—8,2	25	2,0%, 95% этанол	362
n-Нитрокарбобензоксиглицин	122,5—124	—	—	—	462
n-Нитрокарбобензокси-DL-гистидин	206,5—208,5	—	—	—	362
n-Нитрокарбобензокси-L-оксипролин	136,5—139	—41,6	26	1,0%, 1 н. NaOH	462
n-Нитрокарбобензокси-DL-изолейцин	114,5—116,5	—	—	—	462
n-Нитрокарбобензокси-L-изолейцин	77,5—80	—12,6	23	1,0%, 1 н. NaOH	462
n-Нитрокарбобензокси-L-лейцин·H_2O	60—61	—15,8	27	1,0%, 1 н. NaOH	462
α,ε-Ди-*n*-нитрокарбобензокси-L-лизин·H_2O	56—72	—5,4	23	1,0%, пиридин	362
n-Нитрокарбобензокси-DL-метионин	117—119	—	—	—	362
n-Нитрокарбобензоксинитро-L-аргинин	145—146	—8,0	22	1,1%, ацетон	513
n-Нитрокарбобензокси-DL-фенилаланин	134,5—136,5	—	—	—	362
n-Нитрокарбобензокси-L-пролин·H_2O	50—56	—38,9	25	1,0%, 1 н. NaOH	462
n-Нитрокарбобензокси-DL-серин	140,5—142,5	—	—	—	362
n-Нитрокарбобензокси-DL-треонин	141,5—143	—	—	—	362
n-Нитрокарбобензокси-DL-триптофан	151—152,5	—	—	—	362
O,N-Ди-*n*-нитрокарбобензокси-DL-тирозин	154—162	—	—	—	362
n-Нитрокарбобензокси-DL-валин	125,5—127,5	—	—	—	362
n-Хлоркарбобензоксипроизводные					
n-Хлоркарбобензокси-DL-аланин	133,5	—	—	—	514
n-Хлоркарбобензоксиглицин	130	—	—	—	514
n-Хлоркарбобензокси-DL-лейцин	75,5	—	—	—	514
n-Хлоркарбобензокси-DL-фенилаланин	136	—	—	—	514
трет-Бутилоксикарбонилпроизводные					
трет-Бутилоксикарбонил-DL-аланин	110,5—111,5	—	—	—	464, *465*
трет-Бутилоксикарбонил-L-аланин	83—84	—22,4	25	2,1%, CH_3COOH	465
трет-Бутилоксикарбонил-S-бензил-L-цистеин	63—65	—41,0	25	1,0%, CH_3COOH	465
трет-Бутилоксикарбонилглицин	88,5—89	—	—	—	464, *465*
трет-Бутилоксикарбонил-L-изолейцин·$^1/_2$ H_2O	49—57	+3,0	25	2,0%, CH_3COOH	465
трет-Бутилоксикарбонил-L-лейцин·H_2O	74—80	—24,0	25	2,0%, CH_3COOH	*464*, *465*
трет-Бутилоксикарбонил-DL-метионин	93,5—94,5	—	—	—	464, *465*
трет-Бутилоксикарбонил-DL-фенилаланин	144,5—145	—	—	—	465
трет-Бутилоксикарбонил-L-фенилаланин	79—80	—0,8	25	5,0%, CH_3COOH	465
трет-Бутилоксикарбонил-L-пролин	136—137	—60,2	25	2,0%, CH_3COOH	465
трет-Бутилоксикарбонил-L-триптофан	136,5—140,5 (с разл.)	—18,2	25	2,0%, CH_3COOH	465
трет-Бутилоксикарбонил-L-тирозин	136—138	+3,9	25	2,0%, CH_3COOH	465
трет-Бутилоксикарбонил-L-валин	77—79	—5,8	25	1,2%, CH_3COOH	465

Продолжение табл. 71

Ацилированные аминокислоты	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература[a]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Циклопентилоксикарбонилпроизводные					
Циклопентилоксикарбонил-DL-аланин	120—123	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонил-β-аланин	54—58	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонил-L-аспарагин	177—179	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонилглицин	77—80	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонил-DL-изолейцин	95—99	—	—	—	464
α,ε-Дициклопентилоксикарбонил-L-лизин	93—100	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонил-DL-метионин	111—113	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонил-DL-норлейцин	98—102	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонил-DL-фенилаланин	123—127	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонил-DL-α-фенилглицин	93—95	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонил-DL-серин	118—119	—	—	—	464
Циклопентилоксикарбонил-DL-валин	100—102	—	—	—	464
Циклогексилоксикарбонилпроизводные					
Циклогексилоксикарбонил-DL-аланин	125—126	—	—	—	464
Циклогексилоксикарбонилглицин	97—99	—	—	—	464
Циклогексилоксикарбонил-DL-метионин	97—100	—	—	—	464
Циклогексилоксикарбонил-DL-фенилаланин	105—108	—	—	—	464

[a] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

15. Фталильная группа. Раденхаузен [515] в 1895 г., а также Инг и Манске [516] в 1926 г. сообщили, что обработка гидразином может легко вызвать отщепление фталильной группы, соединенной имидной связью с аминокислотой или ее производным. Успешное применение этой реакции в синтезе пептидов было осуществлено Киддом и Кингом [517] в 1948 г., а также независимо Шиханом и Франком [418] в 1949 г. Получение фталиламинокислот (XIII), используемых в таких синтезах, обычно достигается путем прямого сплавления фталевого ангидрида (XI) и свободной аминокислоты (XII) при температуре около 145—150°, согласно методу Ризе [519]:

Эта методика была использована позже Флингом, Минардом и Фоксом [520] в случае D- и L-антиподов лейцина и валина, причем было показано, что величины оптического вращения энантиоморфных фталилированных производных равны и противоположны по знаку (в пределах ошибки опыта). В процессе дальнейшего изучения этой реакции Билман и Хартинг [521] получили различные фталилированные аминокислоты, проводя сплавление реагентов при 180—185°. Как утверждают авторы (правда, без экспериментальных доказательств), при этих условиях оптически активные аминокислоты дают оптически активные производные без заметной рацемизации.

Поскольку в вышеуказанной методике оптически активные аминокислоты подвергаются воздействию высокой температуры, то, естественно, возникает вопрос о возможности рацемизации в ходе синтеза. Одними из первых этот вопрос исследовали Кидд и Кинг [517], которые достоверно показали, что при попытке получить фталил-L-глутаминовую кислоту по методу Билмана и Хартинга [521] удается выделить лишь рацемический продукт. Дальнейшие данные о значительной рацемизации при высокотемпературном сплавлении получены Шиханом, Чэпменом и Ротом [522], наблюдавшими, что при сплавлении фталевого ангидрида с L-фенилаланином при 180° образуется рацемическое соединение. Однако если сплавление проводить при 145—150°, согласно общему методу Флинга, Минарда и Фокса [520], то получаются оптически активные фталиламинокислоты (методика 33). Отсутствие заметной рацемизации в этом случае было установлено путем дефталилирования полученных фталиламинокислот с помощью спиртового раствора гидразина, причем образующиеся свободные аминокислоты имели то же удельное вращение, что и исходные соединения.

Типичная методика 33 [522]. Фталил-L-фенилаланин (XIII; R = $CH_2C_6H_5$). Смесь 9,90 *г* (0,06 моля) L-фенилаланина и 8,95 *г* (0,06 моля) тщательно измельченного фталевого ангидрида нагревают 30 *мин* при температуре масляной бани 145—150°. После охлаждения твердый продукт реакции растворяют в 40 *мл* горячего метанола, раствор фильтруют и разбавляют 40 *мл* воды; при медленном охлаждении фталил-L-фенилаланин выпадает в виде тонких бесцветных игл. Выход 15,5 *г* (88%); т. пл. 183—185°, $[\alpha]_D$ −212° (1,9% в этаноле).

Если указанная методика используется для получения самых различных оптически активных фталиламинокислот, то при этом необходима осо-

Таблица 72

Фталильные производные аминокислот

Фталиламинокислоты	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [б]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Фталил-DL-аланин	160—161	—	—	—	*521*, 529
Фталил-L-аланин	150—151	—17,8	20	9,8%, этанол	530
Фталил-DL-α-амино-*н*-масляная кислота	95,5—96,5	—	—	—	*521*, 532
Фталил-α-аминоизомасляная кислота	152—153	—	—	—	*521*, 529
Фталил-DL-α-аминофенилуксусная кислота	167—168	—	—	—	*521*, 531
Фталил-L-аспарагиновая кислота	197	—58	20	0,4%, метанол	528
Фталил-S-бензил-L-цистеин	128—129	—150,1	20	1,1%, метанол	533
γ-Фталил-DL-α,γ-диаминомасляная кислота	197 (с разл.)	—	—	—	534
Фталил-DL-глутаминовая кислота	189—190	—	—	—	527
Фталил-L-глутаминовая кислота	158—159	—42,6	21	1,0%, 95% этанол	517, *523*, 527, 533, 533
Фталил-DL-глутамин	194—195	—	—	—	*481*, 527
Фталил-L-глутамин	162	—16,9	18	—, 0,33 н. Na_2CO_3	527
Фталилглицин	192—194	—	—	—	519, 521, *526*, 526
Фталил-L-гистидин	294—296	—	—	—	*537*, 538
Фталил-DL-изолейцин	120—121	—	—	—	521
Фталил-DL-изовалин	139—140	—	—	—	*521*, 539
Фталил-DL-лейцин	140—141	—	—	—	*521*, 540
Фталил-D-лейцин	118—119	+22,8	27	—, этанол	520
Фталил-L-лейцин	118,5—119,5	—24,0	27	2,9%, этанол	520, 521, *522*, 536
Фталил-L-метионин	124	—75,5	23	4,7%, диметилформамид	471а
Фталил-нитро-L-аргинин	209—210,5	—	—	—	541
Фталил-DL-норлейцин	111,5—112,5	—	—	—	521
Фталил-DL-норвалин	103—104	—	—	—	521
Фталил-DL-фенилаланин	177,5—179	—	—	—	*518*, 521
Фталил-D-фенилаланин	180—180,5	+207,0	—	2,9%, этанол	522
Фталил-L-фенилаланин	183—185	—212,0	—	1,9%, этанол	522
N-Фталил-O-ацетил-L-серин	152—153	—63,1	27	2,4%, этанол	524
N-Фталил-O-метил-D-серин	101—102,5	+46,9	20	1,8%, этанол	542
N-Фталил-O-метил-L-серин	101—102	—48,1	20	2%, этанол	542
Фталил-DL-треонин	102—103	—	—	—	521
Фталил-L-треонин	143—144	—36,7	26	1,6%, этанол	524
Фталил-DL-валин	101,5—102 [а]	—	—	—	*521*, 543
Фталил-DL-валин·H_2O	80—81,5	—	—	—	543
Фталил-D-валин	113—114	+69,0	27	—, этанол	*520*, 543а
Фталил-L-валин	114—115	—68,5	27	—, этанол	*520*, 543а, 544

[а] Для этого соединения была также приведена [380] температура плавления 165—167°.

[б] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

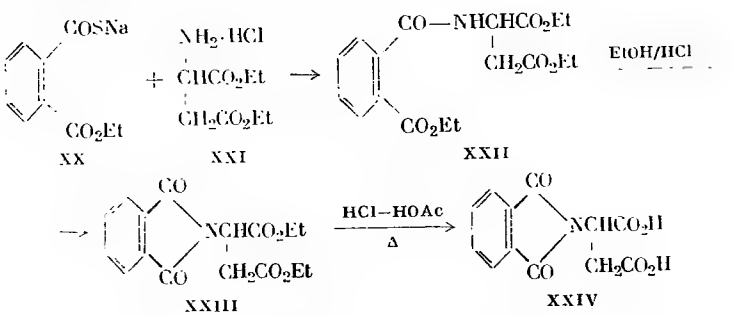
бая осторожность. Отсутствие заметной рацемизации в случае L-фенилаланина ни в коей мере не означает, что в случае аминокислот с другими боковыми цепями будет иметь место сохранение конфигурации при относительно жестких температурных условиях. В связи с этим необходимо подчеркнуть, что получение в тех же самых условиях фталил-L-глутаминовой кислоты протекает с образованием продукта реакции, содержащего около 16% рацемата [523]. Поэтому при использовании этой методики фталилирования регенерирование вводимой в реакцию аминокислоты и последующее определение ее оптических характеристик должно проводиться в случае всех оптически активных фталиламинокислот, которые ранее не контролировались этим методом. Такая предосторожность, конечно, не нужна, если в качестве исходного вещества используются рацемические аминокислоты с единственным асимметрическим центром. В случае же использования рацемической аминокислоты с бо́льшим числом асимметрических центров, например DL-изолейцина, картина становится значительно более сложной. Так, например, рацемизация DL-изолейцина может приводить к образованию смеси эпимеров рацемических фталилизолейцина и фталил-*алло*-изолейцина. Поэтому в случае таких соединений или должна быть выяснена стереохимическая идентичность исходной и регенерированной аминокислоты, или фталиламинокислоты должны получаться другим, более надежным путем (см. методику 35).

За исключением фталильных производных L-аспарагиновой и L-глутаминовой кислот, глутамина, O-ацетил-L-серина и L-треонина, все соединения, перечисленные в табл. 72, были получены по методике 33 или путем некоторого ее видоизменения. Поскольку в условиях сплавления трудно осуществить синтез фталильных производных оксиаминокислот, то в случае L-треонина и L-серина используются подходящие системы растворителей (методика 34). С другой стороны, производные L-аспарагиновой и L-глутаминовой кислот были получены косвенными методами (методика 35) в условиях, исключающих рацемизацию [517, 527, 528].

Видоизменение описанной выше методики получения фталиламинокислот заключается в реакции фталевого ангидрида с аминокислотой в присутствии растворителя (в суспензии или в растворе). Такая методика была описана Ванагом и Вейнбергсом [525] на примере получения ряда фталиламинокислот в кипящей уксусной кислоте. Сравнительно недавно О'Нейл, Вейч и Вагнер-Яурегг [526] в качестве растворителя при получении фталилглицина использовали *п*-цимен, в то время как Кинг и Кидд [527] получили фталил-DL-глутаминовую кислоту при взаимодействии фталевого ангидрида с глутаминовой кислотой в кипящем пиридине с последующей обработкой уксусным ангидридом. Рацемизация в последнем случае, по-видимому, может быть связана с промежуточным образованием азлактона (раздел 8). Однако использование суспензии оптически активной аминокислоты и фталевого ангидрида в горячем диоксане приводит к получению оптически активного продукта реакции (методика 34). Этим способом Шиханом, Гудманом и Хессом [524] были получены фталильные производные L-треонина и O-ацетил-L-серина.

Типичная методика 34 [524]. Фталил-L-треонин. К раствору 4,54 *г* (0,03 моля) фталевого ангидрида в 25 *мл* сухого диоксана добавляют 3,04 *г* (0,025 моля) L-треонина. Гетерогенную смесь помещают в масляную баню, нагретую до 105°, и интенсивно перемешивают в течение 5 *час*. После упаривания растворителя в вакууме оставшийся фталил-L-треонин кристаллизуют из водного ацетона. Выход 6 *г* (95%), т. пл. 135—140°. Две перекристаллизации из водного этанола достаточны для повышения температуры плавления до 143—144°; $[\alpha]_D^{26}$ —36,7° (3,2%, в этаноле).

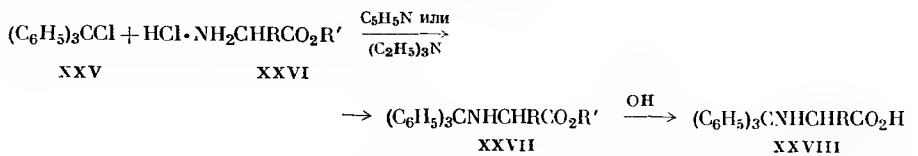
В заключение необходимо рассмотреть метод, введенный Киддом и Кингом [517, 527], и аналогичный метод, предложенный позже Баленовичем, Гаспертом и Стимацем [528]; эти методы, хотя и являются менее прямыми и иногда более трудоемкими, чем описанные выше, тем не менее приводят к оптически активным фталиламинокислотам без заметной рацемизации. Метод Кидда и Кинга, описанный на примере фталил-L-глутаминовой кислоты (XIX), последовательно включает: а) конденсацию фталевого ангидрида (XV) с эфиром аминокислоты (XVI), б) циклизацию промежуточной фталамовой кислоты (XVII) при действии спиртового раствора хлористого водорода или хлористого тионила и в) селективный кислотный гидролиз сложноэфирных групп полученного эфира фталиламинокислоты (XVIII) (методика 35). С другой стороны, метод Баленовича, Гасперта и Стимаца [528], использованный в случае фталил-L-аспарагиновой кислоты (XXIV), включает: а) взаимодействие хлоргидрата диэтилового эфира L-аспарагиновой кислоты (XXI) с натриевой солью *о*-карбэтокситиобензойной кислоты (XX) в диметилформамидном растворе, б) циклизацию полученного таким образом диэтилового эфира N-(*о*-карбэтоксибензоил-L-аспарагиновой кислоты (XXII) в диэтиловый эфир N-фталил-L-аспарагиновой кислоты (XXIII) путем обработки этанольным раствором хлористого водорода и в) гидролиз (XXIII) к N-фталил-L-аспарагиновой кислоте путем кипячения в смеси концентрированной соляной кислоты с уксусной кислотой.



Типичная методика 35 [527]. Фталил-L-глутаминовая кислота (XIX). Кристаллический хлоргидрат диэтил-L-глутамата, полученный при кипячении 28,5 *г* L-глутаминовой кислоты в 400 *мл* 4%-ного раствора хлористого водорода в этаноле (методика 49), обрабатывают при охлаждении под слоем бензола 24,4 *мл* диэтиламина (путем добавления последнего небольшими

порциями). После того как смесь становится гомогенной, хлоргидрат диэтиламина осаждают безводным эфиром и отфильтровывают; при упаривании фильтрата получают 32,2 *г* диэтил-L-глутамата. К эфирному раствору этого соединения добавляют небольшими порциями 23,5 *г* фталевого ангидрида, который при встряхивании растворяется с выделением тепла. Потирание стеклянной палочкой о стенки сосуда вызывает выпадение диэтилового эфира *о*-карбоксибензоил-L-глутаминовой кислоты (XVII) в виде твердой массы, которую примерно через 24 *час* отфильтровывают и промывают эфиром (выход 46,2 *г*). Перекристаллизацию проводят из смеси бензола с легким петролейным эфиром; т. пл. 94°. Полученный таким образом диэфир (XVII) кипятят с 15-кратным объемом 4%-ного этанольного раствора хлористого водорода в течение 2 *час*. Остаток после упаривания смеси встряхивают с водой и хлороформом, хлороформный слой тщательно промывают водным раствором бикарбоната натрия и водой, высушивают и упаривают. Оставшийся диэтиловый эфир фталил-L-глутаминовой кислоты может быть фракционирован при 0,05 *мм* (температура бани 190—200°), при этом образуется бесцветный вязкий сироп; $[\alpha]_D^{19} = -33{,}5°$ (в этаноле). 50,5 *г* неперегнанного диэтилового эфира фталил-L-глутаминовой кислоты (XVIII) растворяют в смеси 450 *мл* уксусной кислоты и 110 *мл* концентрированной соляной кислоты, раствор кипятят 2 *час* и упаривают в вакууме до объема 100 *мл*; при хранении в холодильнике в течение нескольких часов выпадает фталил-L-глутаминовая кислота. Перекристаллизацию проводят из воды; выход 28,2 *г* (65%), т. пл. 158—159°, $[\alpha]_D^{8} = -27{,}4°$ (в 0,33 н. растворе карбоната натрия).

16. Тритильная группа. В 1925 г. Хельферих, Муг и Юнгер [545] описали использование трифенилметильной (тритильной) группы в качестве защитной группировки для первичной гидроксильной группы углеводов, а также аминогруппы аминокислот и пептидов. Несмотря на то что факт легкого отщепления тритильной группы у таких соединений в присутствии минеральных кислот при очень мягких условиях был известен давно, прошло около тридцати лет, прежде чем эта группа была использована в синтетической пептидной химии [546—548]. Ранние методы получения тритиламинокислот (XXVIII) заключались в действии тритилхлорида (XXV) на хлоргидрат эфира аминокислоты в горячем пиридиновом растворе с последующим омылением полученного эфира тритиламинокислоты (XXVII) [545]. Дальнейшее усовершенствование этого метода синтеза было основано на использовании вместо горячего пиридина хлороформного раствора триэтиламина при комнатной температуре [546—548] (методика 36).



Типичная методика 36 [548]. Этиловый эфир тритилглицина (XXVII; R = H, R′ = C_2H_5). К суспензии 1,39 *г* (0,01 моля) хлоргидрата этилового эфира глицина (XXVI); R = H, R′ = C_2H_5) в 15 *мл* сухого хлороформа добавляют 2,2 *г* (0,022 моля) триэтиламина, затем 2.8 *г* (0,01 моля) трифенилхлорметана (XXV) и смесь оставляют на 6 *час* при комнатной температуре. Раствор дважды промывают водой, высушивают сульфатом натрия и растворитель отгоняют в вакууме. Полного удаления хлороформа достигают путем

добавления нескольких миллилитров этанола и последующего упаривания в вакууме. После перекристаллизации остатка из этанола получают 86% этилового эфира тритилглицина; т. пл. 114°. Аналогичная методика может быть использована для синтеза эфиров других тритиламинокислот, перечисленных в табл. 73.

Тритилглицин (XXVIII; R = H). Этиловый эфир тритилглицина (3,45 *г*, 0,01 моля) растворяют при нагревании в 11 *мл* (избыток 10%) 1 н. спиртового раствора едкого кали и 6 *мл* спирта. Раствор оставляют на 1 *час* при комнатной температуре, разбавляют трехкратным объемом воды, охлаждают и затем подкисляют уксусной кислотой. Осадок тритилглицина несколько раз промывают водой и перекристаллизовывают из спирта; выход 92%, т. пл. 178—179°.

В связи с общей применимостью этой методики представляется целесообразным рассмотреть относительные скорости омыления эфиров различных тритиламинокислот. Тот факт, что боковая цепь остатка аминокислоты оказывает весьма существенное влияние на легкость омыления соответствующих эфиров, был впервые отмечен Хильманом-Элисом, Хильманом и Яцкевичем [546], которые сообщили, что эфиры тритилированных глицина и аланина расщепляются при кипячении со смесью 30%-ного раствора едкого натра и пропиленгликоля (1 : 4) с меньшей трудностью, чем соответствующие производные лейцина, метионина и фенилаланина. Последующая работа Зервас и Теодоропулоса [548] показала, что относительные скорости омыления метиловых эфиров ряда различных тритиламинокислот в смеси 1 н. метанольного раствора едкого кали с диоксаном (1 : 1) при 50° понижаются в такой последовательности: глицин > аланин > фенилаланин > цистин. Очевидно, что в случае омыления эфиров аминокислот с еще бо́льшими боковыми цепями степень стерического экранирования, вызываемого тритильной группой, существенно возрастает. Такое различие в скоростях омыления особенно важно с препаративной точки зрения, поскольку для омыления эфиров тритиламинокислот, за возможным исключением производных глицина [548], аланина [548] и серина [547], как правило, необходимы высокая температура и избыток щелочи [546—548], т. е. условия, ведущие одновременно к рацемизации и частичной деструкции тритиламинокислот. Описанная выше общая методика тем не менее может быть использована для получения почти всех тритиламинокислот, перечисленных в табл. 73.

Для того чтобы исключить ограничения, налагаемые описанной выше методикой, Зервас и Теодоропулос [548] получили несколько тритиламинокислот (XXXI) непосредственно из тритилхлорида (XXIX) и аминокислоты (XXX) в водном изопропиловом спирте, содержащем диэтиламин (методика 37). При этом в качестве основных побочных продуктов реакции получаются трифенилкарбинол и небольшие количества тритилдиэтиламина, образующиеся при реакции тритилхлорида с водой и диэтиламином соответственно. Несмотря на крайнюю нестабильность тритилхлорида в гидролизующих средах, глицин, аланин, аспарагин, лейцин и фенилаланин в указанных условиях могут успешно тритилироваться с умеренными выходами (35% и выше). Хотя эти выходы обычно являются более низкими, чем в случае описанного выше менее прямого метода (методика 36), используемые в данном случае менее жесткие условия реакции устраняют опасность рацемизации при работе с оптически активными аминокислотами. Следует отметить, что использование вместо диэтиламина третичных оснований, таких, как пиридин и триэтиламин, приводит к низкому выходу тритиламинокислоты.

Таблица 73

Трифенилметильные производные аминокислот

Трифенилметиламинокислоты (тритиламинокислоты)	Температура плавления, °С			
	свободная кислота	метиловый эфир	этиловый эфир	литература [3]
Тритил-DL-аланин	170	101	101—102	545, *547*, 548
Тритил-L-аланин	200—205 (с разл.)	—	—	548
Тритил-L-аргинин	> 250	—	—	471а
Тритил-L-аспарагин	173—174 [а]	—	—	548
S-Тритил-L-цистеин	203—205 [б]	—	—	549
S, N-Дитритил-L-цистеин	— [в]	90—92	—	*548*, *549*
бис-Тритил-L-цистин	150	146	—	*546*, *548*
Тритил-L-глутаминовая кислота	— [г]	—	—	549
Тритилглицин	178—179	106—107	114	545, 547, *548*
α-Тритил-L-гистидин	202 [д]	—	—	548а
Дитритил-L-гистидин	184—185 [е]	—	—	*547*, 548а
Тритил-DL-лейцин	203—204		—	546
Тритил-L-лейцин	160—165 (с разл.)	—	—	548
ε-Тритил-DL-лизин	225—230	—	—	550
ε-Тритил-L-лизин	230 (с разл.) [ж]	—	—	550
Тритил-DL-метионин	190—192 (с разл.)	124—125	—	546, *547*
Тритил-DL-фенилаланин	194 (с разл.)	—	—	546
Тритил-L-фенилаланин	185—188 (с разл.)	95	—	548
Тритил-DL-серин	180	—	111—112	547
Тритил-DL-триптофан	245	171—172	—	547
Тритил-DL-валин	183	—	—	546

[а] $[\alpha]_D^{20}$ −6,1° (3,5% в метаноле).

[б] $[\alpha]_D^{20}$ +19° (2%, в 0,1 н. NaOH).

[в] $[\alpha]_D^{20}$ +71° (2%, в хлороформе).

[г] Триэтиламмониевая соль плавится при 100°, $[\alpha]_D^{20}$ −32° (2%, в хлороформе).

[д] $[\alpha]_D^{20}$ +23,7° (3,3%, в пиридине).

[е] $[\alpha]_D^{20}$ +9,6° (1%, в хлороформе) [547]; т. пл. 198—200°, $[\alpha]_D$ +3,7° (5%, в пиридине) [548а].

[ж] $[\alpha]_D^{20}$ +9° (2%, в 1 н. HCl).

[3] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

поскольку при этом фактически весь тритилхлорид превращается в трифенилкарбинол [548].

$$\underset{\text{XXIX}}{(C_6H_5)_3CCl} + \underset{\text{XXX}}{NH_2CHRCO_2H} \xrightarrow[(C_2H_5)_2NH,\ 20-25^\circ]{\text{Водн. } \textit{изо}\text{-}C_3H_7OH} \underset{\text{XXXI}}{(C_6H_5)_3CNHCHRCO_2H}$$

Типичная методика 37 [548]. Тритилглицин (XXXI; R = H). К раствору 0,75 *г* (0,01 моля) глицина в смеси 4 *мл* воды, 3 *мл* (0,03 моля) диэтиламина и 8 *мл* изопропилового спирта при непрерывном встряхивании добавляют 3,6 *г* (0,013 моля) тритилхлорида; добавление проводят двенадцатью порциями в течение 1 *час* при комнатной температуре. После завершения

реакции прибавляют 25 *мл* воды, выпавшую смесь трифенилкарбинола и тритилдиэтиламина отфильтровывают и тщательно промывают водой. Объединенные фильтрат и промывные воды подкисляют уксусной кислотой; при этом осаждается тритилглицин, который перекристаллизовывают из этанола. Выход 47%, т. пл. 178—179°.

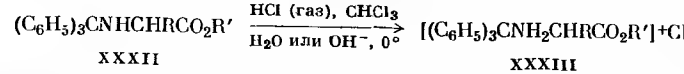
Поскольку некоторые тритиламинокислоты не обладают хорошо выраженной точкой плавления, иногда целесообразно получать диэтиламмониевые соли, имеющие более подходящие физические свойства. Получение последних может быть осуществлено путем добавления диэтиламина к раствору соответствующей тритиламинокислоты в эфире или ацетоне с последующей перекристаллизацией осадка из горячего ацетона. Другой метод основан на получении диэтиламмониевых солей тритиламинокислот непосредственно из свободной аминокислоты, согласно методике 37а. Температуры плавления и удельные вращения диэтиламмониевых солей различных тритиламинокислот, указанные в ряде работ [548, 548а], следующие: DL-аланин 151—152°; L-аланин 157°, $[\alpha]_D$ −18,9°; L-аспарагин 150—151°; L-глутамин 142—144°, $[\alpha]_D$ = +21,9°; глицин 132°; L-лейцин 154—155°, $[\alpha]_D$ + 3,0°; L-метионин 152—153°, $[\alpha]_D$ +21,7°; L-фенилаланин 150°, $[\alpha]_D$ +12,5°; L-пролин 163—165°, $[\alpha]_D$ −57,7°; L-триптофан 150—152°, $[\alpha]_D$ +4,5°; L-валин 160°, $[\alpha]_D$ +6,7° (все удельные вращения измерены при температурах в пределах 22—25° и концентрации 5% в метаноле, за исключением производного пролина, где вращение измерялось при концентрации 5% в хлороформе). Были получены также диэтиламмониевые соли α,ε-дитритил-DL-лизина (т. пл. 130°) и α,ε-дитритил-L-лизина (т. пл. 150°, $[\alpha]_D^{20}$ +23° в хлороформе) [550].

Типичная методика 37а [548а]. Диэтиламмониевая соль тритил-L-лейцина. Смесь, состоящую из 1,3 *г* (0,01 моля) L-лейцина, 4 *мл* воды, 3 *мл* (0,03 моля) диэтиламина и 8 *мл* изопропилового спирта обрабатывают 3,6 *г* (0,013 моля) тритилхлорида в условиях, описанных при получении тритилглицина (методика 37). После окончания реакции добавляют 30 *мл* воды и смесь дважды экстрагируют хлороформом. Объединенные хлороформные экстракты промывают небольшим количеством воды, высушивают сульфатом натрия и упаривают в вакууме досуха. Для полного удаления хлороформа к остатку добавляют несколько миллилитров этанола и смесь снова упаривают в вакууме. Остаток растворяют в безводном эфире и к эфирному раствору добавляют несколько капель диэтиламина. После охлаждения до 4° осадок диэтиламмониевой соли тритил-L-лейцина отфильтровывают, несколько раз промывают безводным эфиром и высушивают в вакууме. Выход 28%; т. пл. 154°; $[\alpha]_D$ +3,0° (5%, в метаноле).

Превращение диэтиламмониевых солей тритиламинокислот в соответствующие свободные кислоты может быть осуществлено их растворением в строго эквимолекулярном количестве 0,2 н. водного раствора едкого натра, выдерживанием полученной смеси в вакууме при 20—25° в течение нескольких минут для удаления большей части выделившегося диэтиламина и последующим подкислением раствора уксусной кислотой при охлаждении. Образовавшийся осадок отфильтровывают, промывают большим количеством холодной воды и высушивают вначале на пористой пластинке, а затем над пятиокисью фосфора в вакууме.

В заключение следует отметить, что хотя тритиламинокислоты ведут себя как слабые кислоты, поскольку они дают соли с такими основаниями, как диэтиламин, тем не менее блокирование аминной функции аминокислот и их эфиров тритильной группой не подавляет полностью их основных свойств.

Тритильные производные аминокислот являются, в сущности, вторичными аминами, и поэтому они способны образовывать хлоргидраты в неводных средах [548] (методика 38). Эти хлоргидраты, однако, являются крайне нестабильными и полностью гидролизуются в присутствии холодной воды.



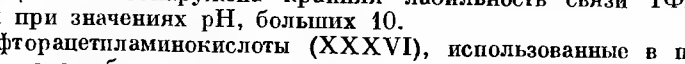
$$\underset{\text{XXXII}}{(C_6H_5)_3CNHCHRCO_2R'} \xrightarrow[H_2O \text{ или } OH^-,\ 0^\circ]{HCl\ (\text{газ}),\ CHCl_3} \underset{\text{XXXIII}}{[(C_6H_5)_3CNH_2CHRCO_2R']^+Cl^-}$$

Типичная методика 38 [548]. Хлоргидрат этилового эфира тритилглицина (XXXIII; R = H, R′ = C_2H_5). К раствору 3,45 *г* (0,01 моля) этилового эфира тритилглицина (методика 36) в нескольких миллилитрах сухого хлороформа добавляют насыщенный раствор хлористого водорода в безводном эфире; немедленно выпадает осадок соли, его опять растворяют в хлороформе и осаждают безводным эфиром. Выход 3 *г* (78%), т. пл. 95—96°. Полученная соль быстро и почти количественно гидролизуется холодной водой или разбавленным раствором бикарбоната натрия с образованием этилового эфира тритилглицина; т. пл. 114°.

В связи с этим интересно отметить, что N-бензильные ($C_6H_5CH_2NHCHRCO_2H$) и N,N-дибензильные [$(C_6H_5CH_2)_2NCHRCO_2H$] производные аминокислот, которые являются, по существу, соответственно вторичными и третичными аминами, также были использованы в синтетической пептидной химии [551—555]. Аналогично карбобензоксигруппе полное удаление этих защитных групп при пептидном синтезе обычно осуществляется путем каталитического гидрогенолиза. Поскольку N-бензильная группа не обладает существенными преимуществами перед другими используемыми защитными группами, ее применение в препаративной пептидной химии было до некоторой степени ограниченным. Тем не менее эта группа была недавно использована для синтеза О-пептидов серина и треонина [565], которые могут быть использованы в качестве промежуточных веществ при получении антиканцерогенного агента азасерина [500, 502] и его аналогов. В табл. 74 перечислены несколько N-бензиламинокислот, которые были до настоящего времени использованы в синтетической пептидной химии.

17. Трифторацетильная группа. Тот факт, что трифторацетильная (ТФА) группа, связанная с атомом азота, может легко отщепляться разбавленными основаниями, был впервые отмечен Свартсом [566], который в 1922 г. описал катализируемое щелочами превращение трифторацетонитрила в трифторуксусную кислоту. Примерно через тридцать лет Вейганд и Ксендс [567] установили, что разбавленная щелочь при мягких условиях также может вызывать гидролиз ТФА-аминокислот, и эти данные привели к последующему использованию ТФА-группы в качестве ацильной защитной группы при синтезе пептидов [568, 569]. Несмотря на значительную нестабильность ТФА-аминокислот по отношению к щелочам, они являются устойчивыми кристаллическими соединениями, которые не претерпевают заметного разложения при хранении в течение нескольких лет [569]. При титровании водной щелочью обнаружена крайняя лабильность связи ТФА-группы с азотом при значениях pH, больших 10.

Трифторацетиламинокислоты (XXXVI), использованные в пептидном синтезе, вначале были получены путем прямого действия трифторуксусного ангидрида (XXXIV) на свободную аминокислоту (XXXV), как видно из следующего уравнения [567]:



$$\underset{\text{XXXIV}}{(CF_3CO)_2O} + \underset{\text{XXXV}}{NH_2CHRCO_2H} \longrightarrow \underset{\text{XXXVI}}{CF_3CO{-}NHCHRCO_2H} + \underset{\text{XXXVII}}{CF_3CO_2H}$$

Таблица 74

N-Бензил- и N,N-дибензилпроизводные аминокислот

N-Бензиламинокислоты	Т. пл., °С	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	Удельное вращение: концентрация и растворитель	Литература
N-Бензил-DL-аланин	250	—	—	551
N,N-Дибензил-DL-аланин	97—98[а]	—	—	553, *554*
N,N-Дибензил-L-аланин	64—65	−45,0	2%, метанол	553
N,N-Дибензил-DL-α-амино-*н*-масляная кислота	128—129[б]	—	—	554
N-Бензил-DL-аспарагин	216[в]	—	—	*556*, 557
N-Бензил-DL-аспарагиновая кислота	194 (с разл.)	—	—	556
N-Бензил-DL-аспарагиновая кислота (хлоргидрат)	87	—	—	558
N,N-Дибензил-DL-глутаминовая кислота	211—212	—	—	559
N-Бензилглицин	198—200	—	—	*551*, 560—563
N,N-Дибензилглицин	200	—	—	*551*, 564
N-Бензил-DL-лейцин	225 (с разл.)	—	—	551
N-Бензил-L-лейцин	225 (с разл.)	+12,0	2%, 20%-ная HCl	551
N,N-Дибензил-DL-лейцин	99	—	—	554
N,N-Дибензил-L-лейцин	104—106	−68	2%, метанол	553
N,N-Дибензил-DL-норвалин	122—124[г]	—	—	554
N,N-Дибензил-L-норвалин	118—119	−71,5	1%, метанол	553
N-Бензил-D-фенилаланин	234	—	—	559
N-Бензил-L-фенилаланин	234	—	—	559
N-Бензил-DL-серин	235—236	—	—	551
N,N-Дибензил-DL-серин	145—146	—	—	553
N,N-Дибензил-L-серин	142—143	−79	2%, метанол	553
N,N-Дибензил-DL-треонин	142—143	—	—	553
N,N-Дибензил-L-треонин	94—96	−111,0	2%, метанол	553
N-Бензил-DL-триптофан	250	—	—	551
N-Бензил-L-тирозин	244	—	—	559
O,N,N-Трибензил-L-тирозин	118—119	−15,0	2%, метанол	553
N,N-Дибензил-DL-валин	114—115	—	—	554
N,N-Дибензил-L-валин	75	−119,5	2%, метанол	553

[а] Изоморфная форма этого соединения плавится при 78—80°.

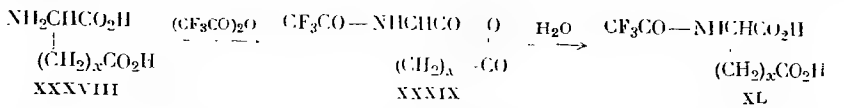
[б] Две другие изоморфные формы этого соединения плавятся при 98 и 84—85° соответственно.

[в] Для этого соединения была также приведена [557] т. пл. 265°.

[г] Изоморфная форма этого соединения плавится при 83—85°.

Хотя этот метод пригоден для получения ряда рацемических производных, его применение является ограниченным а) вследствие того, что реакция не проходит до конца или вообще не имеет места ввиду, как правило, ограниченной растворимости аминокислот в одном эквиваленте трифторуксусного ангидрида, и б) вследствие возможной рацемизации при работе с оптически

активными аминокислотами в том случае, если используют избыток ангидрида (по-видимому, путем промежуточного образования азлактона) [570, 571]. Наконец, этот метод не позволяет без осложнений получать трифторацетильные производные некоторых аминокислот, например аргинина и цистина [570]. Тем не менее, несмотря на эти недостатки, метод был успешно применен для получения оптически деятельных производных аспарагиновой (XL; $x = 1$) и глутаминовой (XL; $x = 2$) кислот, которые в присутствии избытка трифторуксусного ангидрида претерпевают внутримолекулярную циклизацию в ангидрид (XXXIX) (но не в азлактон) [568] (методика 39). Разложение ангидрида (XXXIX) водой приводит к образованию нужной ациламинокислоты (XL). При тщательном контролировании условий реакции путем прямого взаимодействия аминокислоты и трифторуксусного ангидрида могут быть получены также оптически активные производные аланина и валина [572, 573].



Типичная методика 39 [568]. Трифторацетил-L-глутаминовая кислота (XL; $x = 2$). 2 *г* L-глутаминовой кислоты смешивают с 6 *мл* трифторуксусного ангидрида, причем наблюдается энергичная реакция. После полного растворения аминокислоты к реакционной смеси добавляют 50 *мл* холодной воды и затем смесь оставляют на ночь при 0°. Выпавшие кристаллы отфильтровывают и перекристаллизовывают из минимального количества горячей воды; выход 76% теории, т. пл. 192°, $[\alpha]_D^{20}$ —23,8° (2,5%, в воде).

Чтобы исключить возможность рацемизации при синтезе ТФА-аминокислот, Фонс и Ли [574] обрабатывали различные оптически чистые аминокислоты (в виде их суспензии в петролейном эфире) трифторуксусным ангидридом (в количестве, несколько меньшем теоретического) при температуре 60°. Этим путем были получены оптически активные ТФА-D- и L-аминокислоты, хотя часто с довольно невысокими выходами. Тот факт, что при этом синтезе в действительности не имеет места рацемизация, был продемонстрирован [574] путем определения оптической чистоты ряда свободных D-аминокислот, полученных кислотным гидролизом соответствующих ацилированных D-форм, с помощью L-аминооксидазы (гл. 6), причем эти D-аминокислоты не содержали заметных количеств их L-антиподов. Таким образом, оказалось возможным получить серию ценных стандартных соединений, свободных от каких-либо существенных оптических примесей.

Сравнительно недавно предложенный метод Вейганда и Гайгера [570], использовавших легкую растворимость свободных аминокислот в трифторуксусной кислоте, также был применен для получения оптически активных ТФА-аминокислот. Добавление к таким растворам, поддерживаемым при температуре от —10 до +10°, трифторуксусного ангидрида приводит к быстрому образованию ацильного производного с хорошим выходом без заметной рацемизации (методика 40). Ввиду легкой рацемизации, которой подвергаются оптически активные аминокислоты в присутствии смеси ледяной уксусной кислоты с уксусным ангидридом (раздел 8), кажется до некоторой степени поразительным, что никакой оптической инактивации не наблюдается даже в присутствии избытка трифторуксусного ангидрида. Это явление было объяснено отсутствием диссоциации карбоксильной группы ТФА-аминокислот в безводной трифторуксусной кислоте, что исключает потенциальную

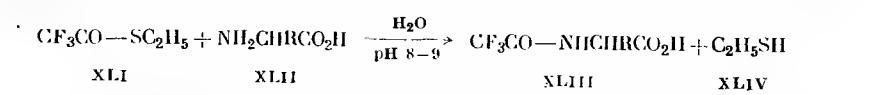
возможность образования азлактона путем взаимодействия ТФА-катиона, $CF_3CO^{\oplus}$, с анионом диссоциированной ациламинокислоты [570]. Кроме того, интересно отметить, что этот метод в случае его применения для трифторацетилирования основных аминокислот, а именно орнитина, аргинина и лизина (методика 41), приводит с хорошим выходом (70%) исключительно к соответствующим α-моноацильным производным. При этом не происходит никакого ацилирования более основных ω-групп, по-видимому, вследствие того, что последние в трифторуксусной кислоте существуют в аммониийной форме.

Типичная методика 40 [570]. Трифторацетил-L-валин. 1,17 *г* (0,01 моля) тщательно высушенного L-валина растворяют в 6 *мл* безводной трифторуксусной кислоты; в случае необходимости растворение может быть достигнуто путем нагревания смеси до кипения в лишенной влажности атмосфере. После растворения смесь охлаждают до —10° в бане со льдом и солью и при встряхивании добавляют к ней по каплям в течение нескольких минут 1,76 *мл* (0,012 моля) трифторуксусного ангидрида. Затем ледяную баню убирают или заменяют водяной баней с температурой +10° и примерно через полчаса избыток ангидрида и трифторуксусной кислоты отгоняют при пониженном давлении и температуре бани не выше 30° в приемник, охлаждаемый смесью ацетона с сухим льдом. Остаток экстрагируют 20 порциями сухого эфира, эфирный экстракт фильтруют и концентрируют; кристаллизацию проводят из толуола. Выход 1,71 *г* (80% теории); т. пл. 86—87°; $[\alpha]_D^{19}$ —15,1° (1,7%, в воде).

Типичная методика 41 [570]. α-Трифторацетил-DL-лизин. К охлажденному раствору 0,458 *г* DL-лизина (свободное основание) в 4 *мл* трифторуксусной кислоты добавляют 0,6 *мл* трифторуксусного ангидрида и реакционную смесь оставляют при 0—15° на 15 *мин*. После упаривания избытка трифторуксусной кислоты (аналогично методике 40) остаток растворяют в воде, нейтрализуют разбавленным раствором гидроокиси аммония и раствор снова упаривают в вакууме досуха. Остаток дважды экстрагируют абсолютным спиртом для удаления трифторацетата аммония и затем кристаллизуют из водного ацетона; выход 0,615 *г* (81% теории), т. пл. 233°.

Использование трифторуксусного ангидрида в реакциях ацилирования типа Шоттена — Баумана было в значительной степени затруднено вследствие исключительной реакционноспособности этого реагента в воде. Однако введение Шелленбергом и Кельвином [569] в качестве ацилирующего агента химически менее лабильного этилового эфира трифтортиоуксусной кислоты (XLI) (методика 42) позволило легко получать ТФА-аминокислоты (XLIII) в водной среде без опасности рацемизации (методика 43). Тот факт, что этот реагент может легко претерпевать реакцию переноса ацильной группы от меркаптидоэтильного радикала к атому азота аминогруппы, основан главным образом на ярковыраженной электрофильности ТФА-группы, а также на значительной аминофильности, проявляемой атомом серы тиольной группы. Поскольку гидролитическое отщепление ТФА-группы происходит при pH, больших 10, ацилирование обычно проводят при pH 8—9 в мягких условиях. Нужный продукт реакции (XLIII), образующийся одновременно с низкокипящим этилмеркаптаном (XLIV), может быть, как правило, осажден путем подкисления реакционной смеси. Весьма интересно отметить, что в то время как из лизина и орнитина по этому методу получаются ω-моно-ТФА-производные (методика 44), использование упомянутой ранее системы трифторуксусный ангидрид — трифторуксусная кислота [570]

приводит к образованию исключительно соответствующих моно-α-ацильных производных.



Типичная методика 42 [575]. Этиловый эфир трифтортиоуксусной кислоты. 31 *г* этилмеркаптана охлаждают в бане со льдом и к нему при периодическом охлаждении и встряхивании добавляют по каплям в течение 1 *час* 130 *г* трифторуксусного ангидрида (*под тягой*!). Реакционную колбу снабжают обратным холодильником, защищенным от влаги воздуха хлоркальциевой трубкой, смесь оставляют на 1 *час* при комнатной температуре, затем нагревают 3 *час* при 100°, причем раствор приобретает красноватую окраску. Избыток ангидрида и трифторуксусной кислоты удаляют путем промывания смеси холодным 5%-ным раствором едкого кали (2 × 500 *мл*) и водой, затем смесь высушивают безводным сульфатом магния и фракционируют при обычном давлении; т. кип. 90,5° (при 760 *мм*). Выход 60% теории (считая на этилмеркаптан).

Типичная методика 43 [569]. Трифторацетилирование этиловым эфиром трифтортиоуксусной кислоты. Аминокислоту (XLII) растворяют в 1 экв. 1 н. раствора едкого натра в колбе, снабженной арматурой на стеклянных шлифах и имеющей пробку с краном, открытым в атмосферу. Такое приспособление необходимо для того, чтобы обеспечить вывод из системы этилмеркаптана, являющегося побочным продуктом ацилирования; затем к раствору добавляют этиловый эфир трифтортиоуксусной кислоты (XLI) (методика 42) в количестве 0,2 *мл* на 1 *ммоль* используемой аминокислоты (т. е. в молярном соотношении 1,6 : 1) и гетерогенную смесь встряхивают на механической мешалке в течение 24 *час*. Смесь охлаждают на ледяной бане, подкисляют концентрированной соляной кислотой и выпавший продукт реакции отфильтровывают.

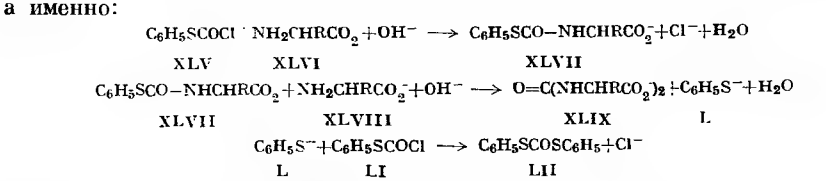
Этим способом получены следующие ТФА-аминокислоты (указаны их выходы и растворители для кристаллизации): L-аргинин (дигидрат), 62,9%, вода; L-аспарагин, 64,5%, метанол — вода; DL-метионин, 70,2%, бензол — петролейный эфир (2 : 1); DL-фенилаланин, 80,4%, бензол — гексан (1 : 1); L-фенилаланин, 76,2%, бензол—гексан (1 : 1); триптофан (гидрат), 48,4%, вода. Кроме того, аналогичным методом получены производные глицина и DL-норлейцина, однако последние после подкисления экстрагировали эфиром и этилацетатом соответственно. После концентрирования этих экстрактов остаток кристаллизовали из бензола. Температуры плавления этих производных приведены в табл. 75.

Типичная методика 44 [569]. ε-Трифторацетил-DL-лизин. К раствору 1,83 *г* (10 *ммолей*) DL-лизина (монохлоргидрата) в 10 *мл* 1 н. едкого натра добавляют 2 *мл* этилового эфира трифтортиоуксусной кислоты (методика 42). Гетерогенную смесь встряхивают 6 *час*; при этом медленно выпадает осадок и, в конце концов, раствор полностью затвердевает. Реакционную массу охлаждают ледяной водой, осадок отфильтровывают, растворяют в 10 *мл* горячей воды и полученный раствор разбавляют 15 *мл* горячего этанола. При охлаждении смеси выпадают белые прямоугольные кристаллы; выход 1,25 *г*; т. пл. 226—231° (с разложением).

В табл. 75 перечислены некоторые ТФА-аминокислоты, полученные с использованием вышеуказанных или видоизмененных методов.

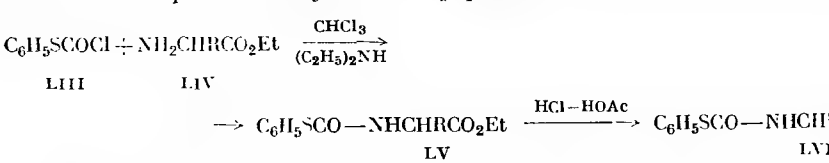
18. Фенилтиокарбонильная и родственные группы. В 1947 г. Эренсверд [578] предложил использовать в синтетической пептидной химии фенилтиокарбонильную группу (ФТК-), поскольку последняя легко отщепляется от пептидных производных при действии ацетата свинца в 70%-ном этаноле или гидроокиси свинца (карбоната свинца) в разбавленной щелочи. Более детальное исследование этого метода Линденманом, Каном и Гофманом [579] показало, что такое расщепление протекает в действительности с образованием главным образом гидантоинов, а не требуемых пептидов. Последующая работа Коллонича, Габора и Хайоша [580] показала, однако, что свободные пептиды могут быть легко получены из их соответствующих ФТК-производных путем окислительного расщепления пербензойной кислотой. Подобная чувствительность метилтиокарбонильной (МТК-) и бензилтиокарбонильной (БТК-) групп к такому расщеплению также была отмечена [580]. Однако с тех пор не было никаких сообщений о широком использовании хотя бы одной из этих интересных защитных групп для получения пептидов.

Попытки получить ФТК-аминокислоты (XLVII) путем ацилирования свободной аминокислоты (XLVI) ФТК-хлоридом (XLV) [581] в условиях Шоттена — Баумана оказались безуспешными [578, 582]. При исследовании этой реакции на примере L-фенилаланина (XLVI; R = $C_6H_5CH_2$) Шуллер и Ниман [582] выделили дифенилдитиокарбонат (LII) и N,N′-карбонил-*бис*-L-фенилаланин (XLIX; R = $C_6H_5CH_2$) вместо нужного ФТК-L-фенилаланина (XLVII; R = $C_6H_5CH_2$). Отсюда был сделан вывод, что при реакции в действительности имеет место промежуточное образование последнего соединения (XLVII), и было высказано предположение, что выделяемые продукты реакции образуются в результате последующих превращений, а именно:



Использование этой реакционной схемы позволило осуществить синтез ряда моно- и дизамещенных мочевин [583].

Как следствие вышеизложенного, получение ФТК-аминокислот (LVI) обычно проводят путем действия ФТК-хлорида (LIII) на соответствующий аминоэфир (LIV) в хлороформном растворе с последующим селективным кислотным гидролизом полученного эфира ациламинокислоты (LV) [578, 579].



Поскольку указанный метод получения соответствующим образом защищенных аминокислот является относительно трудоемким, это создает серьезные препятствия для использования ФТК-группы. В связи с этим интересно отметить, что структурно родственные МТК- и БТК-аминокислоты (LIX: R = CH_3 или $C_6H_5CH_2$), которые можно использовать в синтетической пептидной химии таким же образом, как и их ФТК-аналоги, могут быть получены действием МТК-хлорида (LVII; R = CH_3) или БТК-хлорида (LVII;

Таблица 75

Трифторацетильные производные аминокислот

Трифторацетиламинокислоты	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [a]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Трифторацетил-DL-аланин	120,5	—	—	—	567, *568*, 570
Трифторацетил-D-аланин	66—68	+60,6	25	2%, H_2O	572
Трифторацетил-L-аланин	66—68	−60,7	18	2%, H_2O	568, 570, *572*
Трифторацетил-D-α-амино-*н*-масляная кислота	55—57	+41,8	25	2%, H_2O	574
Трифторацетил-L-α-амино-*н*-масляная кислота	55—57	−42,1	25	2%, H_2O	574
Трифторацетил-D-α-аминодециловая кислота	75—77	+5,0	25	2%, этанол	574
Трифторацетил-L-α-аминодециловая кислота	75—77	−5,0	25	2%, этанол	574
α-Трифторацетил-L-аргинин	130—132	−3,5	18	2%, H_2O	570
α-Трифторацетил-L-аргинин·$2H_2O$	140—142	—	—	—	569
Трифторацетил-DL-аспарагиновая кислота	160—162	—	—	—	574
Трифторацетил-L-аспарагин	164—165	—	—	—	569
Трифторацетил-S-бензил-DL-цистеин	129—130	—	—	—	570
Трифторацетил-S-бензил-L-цистеин	84—85	−84,5	12	1,5%, 99% этанол	570
бис-Трифторацетил-L-цистин	165—166	−247,5	14	1,3%, 99% этанол	570
Трифторацетил-L-глутаминовая кислота	192	−23,8	20	2,5%, H_2O	568
Трифторацетилглицин	117—119	—	—	—	567—569, *574*
Трифторацетил-D-лейцин	72—75	+40,0	25	2%, этанол	574
Трифторацетил-L-лейцин	72—75	−39,5	25	2%, этанол	570, *574*
α-Трифторацетил-DL-лизин	233,0	—	—	—	570
ε-Трифторацетил-DL-лизин	226—231 (с разл.)	—	—	—	569
α, ε-Дитрифторацетил-DL-лизин	122—123	—	—	—	570
Трифторацетил-DL-метионин	95—96	—	—	—	569, *570*, 574
Трифторацетил-D-метионин	69—71	+22,0	25	2%, H_2O	574
Трифторацетил-L-метионин	69—71	−22,7	25	2%, H_2O	574
Трифторацетил-DL-норлейцин	79—82,5	—	—	—	569
Трифторацетил-D-норлейцин	70—72	+13,5	25	2%, этанол	574
Трифторацетил-L-норлейцин	71—73	−13,0	25	2%, этанол	574
Трифторацетил-D-норвалин	65—68	+32,0	25	2%, H_2O	574
Трифторацетил-L-норвалин	64—67	−31,5	25	2%, H_2O	574
α-Трифторацетил-L-орнитин	232—233	−9,5	20	0,7%, 5% этанол	570
δ-Трифторацетил-DL-орнитин	228—232	—	—	—	569
δ-Трифторацетил-L-орнитин	250—251	+12,9	20	0,5%, H_2O	570
Трифторацетил-DL-фенилаланин	127—128	—	—	—	569, *572*
Трифторацетил-D-фенилаланин	120—122	−17,2	25	2%, этанол	574
Трифторацетил-L-фенилаланин	120—122	+17,4	25	2%, этанол	569, *574*
Трифторацетил-DL-пролин	81—83	—	—	—	572
Трифторацетил-L-пролин	46—48	−60,3	14	1,0%, бензол	576
Трифторацетил-L-триптофан	162—163	—	—	—	570
Трифторацетил-L-триптофан·H_2O	95	—	—	—	569
N-Трифторацетил-L-тирозин	192,5—193,5	+45,0	25	2%, H_2O + 1 экв. NaOH	570, *577*
Трифторацетил-DL-валин	121—121,5	—	—	—	567, 569, *570*
Трифторацетил-D-валин	86—88	+15,0	25	2%, H_2O	574
Трифторацетил-L-валин	86—88	−15,2	25	2%, H_2O	570, 573, *574*

[a] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

R = $C_6H_5CH_2$) соответственно на водные растворы аминокислот (LVIII) в присутствии бикарбоната натрия, карбоната натрия или окиси магния [580].

$$\underset{\text{LVII}}{RSCOCl} + \underset{\text{LVIII}}{NH_2CHR'CO_2H} \xrightarrow[\text{или MgO}]{NaHCO_3,\ Na_2CO_3} \underset{\text{LIX}}{RSCO{-}NHCHR'CO_2H}.$$

В табл. 76 приведены некоторые БТК-, МТК- и ФТК-аминокислоты, описанные до настоящего времени.

Таблица 76

Некоторые бензил-, метил- и фенилтиокарбонильные производные аминокислот

Ациламинокислота	Т. пл., °С	Литература
Бензилтиокарбонил-DL-аланин	177—178	580
Бензилтиокарбонил-L-аланин	128—129	580
Бензилтиокарбонил-L-глутаминовая кислота	118—120	580
Бензилтиокарбонилглицин	151—152	580
Бензилтиокарбонил-DL-фенилаланин	110	580
Бензилтиокарбонил-*трео*-β-фенил-DL-серин	153	580
Бензилтиокарбонил-DL-серин	146—147	580
Метилтиокарбонилглицин	118—119	580
Метилтиокарбонил-*трео*-β-фенил-DL-серин	129—130	580
Фенилтиокарбонил-DL-аланин	136—138	579
Фенилтиокарбонил-L-глутаминовая кислота [a]	111—113	579
Фенилтиокарбонилглицин	153—154	578, *579*
Фенилтиокарбонил-L-валин	114	421

[a] $[\alpha]_D^{26}$ −22° (1 %, MeOH).

19. *о*-Нитрофеноксиацетильная и хлорацетильная группы. В 1952 г. Р. Холли и А. Холли сообщили [494], что *о*-нитрофеноксиацетильные ($NO_2C_6H_4OCH_2CO$ —) производные пептидов при каталитическом восстановлении к соответствующим *о*-аминофеноксиацетильным ($NH_2C_6H_4OOCH_2CO$ —) производным и последующей обработке горячей водой претерпевают расщепление до лактама *о*-аминофеноксиуксусной кислоты ($NHC_6H_4OCH_2CO$) и свободного пептида. Те же исследователи показали также, что *о*-амино-N-фенилглицильные (*о*-$NH_2C_6H_4NHCH_2CO$—) производные пептидов могут претерпевать аналогичную реакцию, приводящую в этом случае к образованию лактама *о*-аминофенилглицина ($NHC_6H_4NHCH_2CO$) и свободного пептида. Поскольку хлорацетилированные пептиды легко превращаются в соответствующие *о*-амино-N-фенилглицилпептиды при обработке *о*-фенилендиамином в горячем водном растворе, указанный метод дает возможность использования хлорацетильной группы в качестве защитной группировки в синтезе пептидов. К сожалению, до настоящего времени в литературе не появилось никаких данных о дальнейшем использовании этих двух перспективных защитных групп.

20. **Формильная группа.** Благодаря крайней лабильности формамидов к действию этанольного раствора хлористого водорода удаление формильных групп с соответствующих пептидных производных может быть достигнуто без расщепления лабильных пептидных связей. Хотя использование этого

метода в синтетической пептидной химии было впервые описано Уэйли в 1953 г. [584, 584a], дальнейшее его приложение было с тех пор достаточно ограниченным [585, 586]. Несмотря на относительно позднее введение формильной защитной группы в пептидную химию, методы получения формиламинокислот были известны очень давно. Так, Зера [584] еще в 1890 г. получил формил-*п*-аминобензойную кислоту при действии теплой концентрированной муравьиной кислоты на *п*-аминобензойную кислоту. Более широкое приложение этого метода было сделано Э. Фишером [ср. 593], который использовал эту реакцию с аминокислотами, но по иронии судьбы не заметил ценных свойств крайне лабильного к кислотам формильного радикала как избирательно снимаемой защитной группы в синтезе пептидов. Получение формиламинокислот (LXII) по методу Фишера и Варбурга [593] основано на продолжительном нагревании раствора соответствующей аминокислоты (LXI) в концентрированной муравьиной кислоте (LX), последующем упаривании растворителя, добавлении свежей порции муравьиной кислоты и повторении указанной операции (методика 45). Менее трудоемкая методика была предложена дю-Виньо, Дорфманом и Лорингом [590], которые обрабатывали исходную аминокислоту смесью муравьиной кислоты (LXIV) с уксусным ангидридом при 50—60°; активным ацилирующим агентом был, по-видимому, муравьиный ангидрид (LXIII), который мог образоваться в результате диспропорционирования указанной смеси. Модификация этого метода Шиханом и Янгом [586] позволила использовать низкую температуру (методика 46) для уменьшения опасности рацемизации при работе с оптически активными аминокислотами.

$$\underset{\text{LX}}{HCOOH} + \underset{\text{LXI}}{NH_2CHRCO_2H} \xrightarrow{\Delta} \underset{\text{LXII}}{HCO{-}NHCHRCO_2H} \xleftarrow{NH_2CHRCO_2H} \underset{\text{LXIII}}{(HCO)_2O} \xleftarrow{Ac_2O} \underset{\text{LXIV}}{HCOOH}$$

Типичная методика 45 [593]. Формилглицин. Смесь 5 *г* глицина и 7,5 *г* 98,5%-ной муравьиной кислоты нагревают 3 *час* при 100° и затем реакционную смесь упаривают в вакууме досуха. Эту операцию повторяют более двух раз. Оставшуюся кристаллическую массу обрабатывают небольшим количеством холодной воды для удаления непрореагировавшей аминокислоты и затем перекристаллизовывают из 3 объемов горячей воды. Дальнейшую кристаллизацию проводят из 80 объемов этилацетата; т. пл. 153—154° (с разложением).

Типичная методика 46 [586, 590]. Формиламинокислоты. К смеси приблизительно 0,1 моля соответствующей аминокислоты в 210 *мл* 98%-ной муравьиной кислоты добавляют по каплям 70 *мл* уксусного ангидрида, причем температуру реакционной смеси поддерживают в интервале от 5 до 15° с помощью бани со льдом. После окончания добавления реакционную массу перемешивают 1 *час* при комнатной температуре, добавляют к ней 80 *мл* ледяной воды и раствор упаривают в вакууме досуха. Перекристаллизацию остатка проводят из воды, водного этанола или другого подходящего растворителя. Выходы обычно составляют более 80% теории.

В табл. 77 приведены некоторые формиламинокислоты, которые были получены на основе вышеуказанных методов. Следует отметить, что приведенный здесь формил-L-цистеин был получен Фрутоном и Кларком [590] путем восстановления дисульфидной связи *бис*-формил-L-цистина цинком в соляной кислоте.

Таблица 77

Формильные производные аминокислот

Формиламинокислоты	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Формил-DL-аланин	150	—	—	—	587
α-Формил-L-аргинин	269—270	—	—	—	588
Формил-L-аспарагин·H_2O	168—169 (с разл.)	—	—	—	589
Формил-L-цистеин	87—89	—	—	—	590
Формил-S-бензил-L-цистеин	126	—8,6	18	5 %, этанол	432а
бис-Формил-DL-цистин	194—196	—	—	—	590
бис-Формил-L-цистин	187—188	—162,1	25	1,0 %, 1 н. NaOH	590
Формил-L-глутаминовая кислота	112—113	—7,3	20	2 %, вода	591, *592*
Формил-L-глутамин	118—120 (с разл.)	—2,5	28	2%, 1 н. HCl	591
Формилглицин	153—154 (с разл.)	—	—	—	593
Формил-DL-гистидин	207—208	—	—	—	594
Формил-L-гистидин	202 (с разл.)	+56,7	20	2,2 %, H_2O	594
Формил-DL-изолейцин	121—122	—	—	—	595
Формил-D-изолейцин	156—157	—27,8	20	10, 1 %, этанол	595
Формил-L-изолейцин	157	+27,0	25	3 %, этанол	*298*, 595
Формил-L-*алло*-изолейцин	123	+27,9	25	3 %, этанол	298
Формил-DL-лейцин	115—116	—	—	—	593
Формил-D-лейцин	—	+18,8	20	10,0 %, этанол	593
Формил-L-лейцин	—	—18,5	20	10,0 %, этанол	593
α-Формил-L-лизин	193—193,5	—	—	—	42
Формил-DL-метионин	99—100	—	—	—	596
Формил-D-метионин	99—100	+10,6	25	0,8 %, H_2O	596
Формил-L-метионин	99—100	—10,0	25	0,8 %, H_2O	596
Формил-DL-фенилаланин	169—170	—	—	—	224
Формил-D-фенилаланин	167	—75,4	20	4 %, этанол	224
Формил-L-фенилаланин	167	+75,2	20	4 %, этанол	224
Формил-DL-триптофан	167—168 (с разл.)	—	—	—	597
Формил-DL-тирозин·H_2O	182 (с разл.)	—	—	—	598
Формил-L-тирозин	170—171	+89,4	10	1,7 %, этанол	584а, *599*
N-Формил-O-ацетил-L-тирозин	164—165	+73,5	19	1,9 %, этанол	584а
Формил-DL-валин	140—145	—	—	—	600
Формил-D-валин	156	+13,1	20	9,0 %, этанол	600
Формил-L-валин	156	—13,0	20	9,0 %, этанол	600

21. Бензилсульфонильная группа. Сравнение бензилсульфонильной группы (LXVI) с тозильной (LXVII) и карбобензоксигруппами (LXV) показывает, что первую группу можно рассматривать как гибрид двух последних.

$$\boxed{C_6H_5CH_2}-OCO- \qquad C_6H_5CH_2-SO_2- \qquad CH_3C_6H_4-\boxed{SO_2}-$$

LXV LXVI LXVII

О возможности применения бензилсульфонильной группы в синтетической пептидной химии было указано Милном и Пенджом [601], которые

отметили способность этой группы, соединенной амидной связью с аминокислотным остатком, селективно отщепляться при каталитическом действии никеля Ренея или (аналогично тозильной и карбобензоксигруппам) при восстановительном действии натрия в жидком аммиаке. Бензилсульфониламинокислоты (LXX) могут быть также получены путем действия соответствующего хлорангидрида, т. е. бензилсульфонилхлорида (LXVIII), на аминокислоту (LXIX) в условиях Шоттена — Баумана (методика 47). В табл. 78 приведены

Таблица 78

Бензилсульфонильные производные аминокислот [601]

Бензилсульфонильные производные	Т. пл., °С	Удельное вращение (1 % в 1 н. NaOH)		Выход, %		Растворитель для кристаллизации
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	метод А	метод В	
DL-Аланин	164—165	—	—	41	40	Горячая вода
D-Аланин	128	+38,7	26		36	» »
L-Аланин	127—128	—38,5	26		29	» »
β-Аланин	149—150	—	—	38		EtOH — вода
L-Аргинин (α, ω-ди) [а]	84—86	—8,7	26	27		Ацетон — эфир
DL-Аспарагиновая кислота	106—107	—	—	26		EtOAc — $CHCl_3$
L-Цистин-(α,α′-ди)	172—173	+72,2	26	61		Вода — ацетон
DL-Этионин	95	—	—		65	Эфир — петролейный эфир
DL-Глутаминовая кислота	131—132	—			40	EtOAc — $CHCl_3$
Глицин	151—152	—		44		Горячая вода
L-Гистидин (α)	182—185	—22,2	25	38		Вода — ацетон
L-Оксипролин	143—144	—40,6	24	32		Эфир — гексан
DL-Изолейцин [б]	113	—	—	30		EtOH — вода
L-Изолейцин	146—147	—39,9	24	39		EtOH — вода
DL-Лейцин	113—114	—	—	52	58	EtOH — вода
D-Лейцин	133—134	+23,7	26	41	55	EtOH — вода
L-Лейцин	133—134	—23,1	26	63	72	EtOH — вода
L-Лизин (α,ε-ди-)	144—145	—9,9	26	27	50	EtOH — вода
DL-Метионин	110—111	—	—	42	47	EtOH — вода
D-Метионин	90—91	+13,6	26		49	Эфир — гексан
L-Метионин	90—91	—13,5	26	58	70	Эфир — гексан
DL-Норлейцин	103—104	—	—	40		EtOH — вода
DL-Норвалин [в]	84—85	—	—	41		EtOH — вода
DL-Орнитин (α,δ-ди-)	54—55	—	—	48		EtOH — вода
DL-Фенилаланин	151—152	—	—	47		EtOH — вода
L-Фенилаланин	156—157	—12,6	25	28	58	EtOH — вода
L-Пролин [г]	107—108	—72,3	25	22		Эфир
DL-Серин	123—124	—	—	47		EtOAc—петролейный эфир
DL-Треонин	143—144	—	—	51		EtOAc—петролейный эфир
DL-Триптофан·H_2O	95—96	—		65	52	EtOH — вода
DL-Тирозин (O,N-ди-)	195—196	—	—	43		Ацетон — вода
L-Тирозин (O,N-ди-)	191—192	—9,2	24	40		Ацетон — вода
DL-Валин [д]	123—124	—		53	58	EtOH — вода

[а] Вещество осаждается из смеси ацетона с эфиром в виде масла; после высушивания в вакууме представляет собой стеклообразную массу.

[б] Это соединение кристаллизуется из водного этанола в виде гидрата с т. пл. 74—75°, который теряет воду при 90°.

[в] Вещество кристаллизуется из водного этанола при охлаждении в виде кристаллического гидрата (иглы) с т. пл. 50—51°, который может быть высушен до постоянного веса при 100°.

[г] Вещество растворяют в небольшом количестве эфира и кристаллизуют при медленном упаривании растворителя.

[д] Соединение кристаллизуется из водного этанола в виде гидрата с т. пл. 65,5—66,5° и теряет воду при хранении в вакууме над фосфорным ангидридом.

метод получения, выход, растворитель для кристаллизации и физические константы различных бензилсульфониламинокислот.

$$\underset{\text{LXVIII}}{C_6H_5CH_2SO_2Cl} + \underset{\text{LXIX}}{NH_2CHRCO_2H} \longrightarrow \underset{\text{LXX}}{C_6H_5CH_2SO_2-NHCHRCO_2H}$$

Типичная методика 47 [601]. Бензилсульфониламинокислоты. Метод А. Выбранную аминокислоту (обычно 0,01—0,03 моля) растворяют в 1,2 экв. 1 н. раствора едкого натра и раствор охлаждают в бане со льдом. К смеси добавляют пятью приблизительно равными порциями 1,2 экв. порошкообразного бензилсульфонилхлорида и 1,4 экв. 1 н. раствора едкого натра. Реакционную смесь охлаждают и интенсивно встряхивают в течение 15—20 *мин* (за исключением производного пролина, в случае которого требуется 30 *мин*) перед прибавлением каждой порции реагентов. Затем смесь встряхивают еще 1 *час* при комнатной температуре и подщелачивают (по лакмусовой бумажке) 1 н. раствором едкого натра. Непрореагировавшее вещество отфильтровывают, фильтрат промывают в делительной воронке эфиром (2×20 *мл*) и водный слой концентрируют в вакууме для удаления растворенного в нем эфира. Раствор медленно подкисляют (по конго красному) концентрированной соляной кислотой и выпавший продукт реакции перекристаллизовывают из подходящего растворителя, указанного в табл. 78.

Метод Б. К раствору, состоящему из 0,03 экв. аминокислоты, 30 *мл* 1 н. раствора едкого натра и 30 *мл* диоксана, добавляют одновременно десятью примерно равными порциями 50 *мл* 1 н. раствора едкого натра и 0,045 экв. бензилсульфонилхлорида в 50 *мл* диоксана. В интервалах между добавлением реагентов смесь энергично встряхивают на механической качалке в течение 15—20 *мин* в бане со льдом, а после добавления всех реагентов — еще 1—2 *час* при комнатной температуре. Раствор подщелачивают по лакмусовой бумажке, фильтруют и фильтрат промывают эфиром (2×40 *мл*). Водный раствор подкисляют (по конго красному) концентрированной соляной кислотой, насыщают хлористым натрием и экстрагируют этилацетатом (3×50 *мл*). Этилацетатный раствор промывают 30 *мл* воды и добавляют к нему 100 *мл* петролейного эфира (т. кип. 30—60°). Продукт реакции экстрагируют 1 н. раствором бикарбоната натрия (3×50 *мл*), водный экстракт упаривают в вакууме до исчезновения запаха этилацетата и затем при интенсивном перемешивании подкисляют (по конго красному) концентрированной соляной кислотой. Выпавшее производное кристаллизуют из подходящего растворителя, указанного в табл. 78.

Защита карбоксильной группы

При химическом связывании двух аминокислот пептидной связью конденсация соответствующим образом активированной ациламинокислоты с другой аминокислотой требует, чтобы реакционноспособность карбоксильной группы последнего реагента была соответственно подавлена. Если конденсация проводится в водно-щелочной среде, то проблема защиты реакционноспособной карбоксильной функции свободной аминокислоты может быть относительно просто решена путем получения щелочной соли. Однако если в подобной реакции используются неводные растворители, такие, как хлороформ, диоксан или этилацетат, то карбоксильную группу соответствующей аминокислоты обычно защищают путем ее превращения перед конденсацией в сложный эфир. Чтобы такие сложные эфиры могли быть удовлетворительно применены в синтетической пептидной химии, они должны отвечать, в сущности, тем же самым требованиям, что и перечисленные выше для N-защитных групп. Эти требования целесообразно привести здесь еще раз: а) соответствующий аминоэфир должен быть легко доступным на основе использования простых методов органической химии; б) этерификация должна протекать с высоким выходом; в) условия, применяемые для этерификации, не должны вести к рацемизации при работе с оптически активными аминокислотами; г) получаемые аминоэфиры должны быть легко кристаллизующимися, что облегчает их очистку и идентификацию; д) сложноэфирная группа должна быть устойчивой в условиях конденсации с другим аминокислотным остатком; е) в конечной стадии синтеза сложноэфирная группа должна избирательно сниматься в условиях, не ведущих к рацемизации или деструкции лабильной молекулы пептида, и ж) удаление эфирной группы не должно приводить к образованию побочных веществ, затрудняющих очистку нужного продукта реакции.

За исключением щелочных солей, производные, используемые в синтетической химии пептидов в качестве С-концевых защитных групп для аминокислот, ограничиваются главным образом метиловыми, этиловыми и бензиловыми эфирами *. Первые две группы вследствие их высокой чувствительности к действию щелочи были широко использованы в методах конденсации пептидов Фишером и Курциусом в течение первого десятилетия этого века (раздел 4). Последующее введение Бергманом, Зервасом и Зальцманом [602] бензиловых эфиров было основано на известной чувствительности этой группы к расщеплению каталитическим гидрогенолизом. Методы, обычно используемые для получения метиловых, этиловых и бензиловых эфиров аминокислот, детально обсуждаются ниже.

22. Метиловые и этиловые эфиры аминокислот. Несмотря на многочисленные методы, имеющиеся в препаративной органической химии для синтеза эфиров аминокислот, для получения указанных соединений обычно использовались лишь немногие из этих методов. Основным среди них является метод, примененный в 1888 г. Курциусом и Гёбелем [603] для получения хлоргидрата этилового эфира глицина путем действия абсолютного спирта и хлористого водорода на глицин. Практически суспензию свободной аминокислоты (I) в абсолютном метаноле или этаноле (II) насыщают сухим хлористым водородом; полученный таким образом хлоргидрат эфира аминокислоты (III) или отфильтровывают, если образуется нерастворимое производное, например хлоргидрат этилового эфира глицина, или выделяют путем упаривания спиртового маточного раствора, если образуется растворимый продукт реакции (методика 48). В общем хлоргидраты аминоэфиров получаются с превосходным выходом и в случае оптически активных аминокислот, по-видимому, без какой-либо заметной рацемизации.

$$\underset{\text{I}}{NH_2CHRCO_2H} + \underset{\text{II}}{R'OH} \xrightarrow{HCl} \underset{\text{III}}{HCl\cdot NH_2CHRCO_2R'} + \underset{\text{IV}}{H_2O}.$$

Типичная методика 48. Этерификация аминокислот (метод I). В суспензию 10 *г* соответствующей аминокислоты в 150 *мл* абсолютного метанола или этанола пропускают без внешнего охлаждения интенсивный ток сухого хлористого водорода. После растворения всей аминокислоты горячую реакционную смесь охлаждают в бане со льдом и введение газа продолжают при 0—5° до насыщения смеси. Затем реакционную массу, защищенную от влаги воздуха хлоркальциевой трубкой, оставляют приблизительно на 3—4 *час* при комнатной температуре. В зависимости от того, образуется ли нерастворимый или

* См. дополнения.

растворимый продукт реакции, дальнейшие операции сводятся к следующему. а) Если продукт реакции нерастворим, то смесь оставляют стоять на холоду на ночь, фильтруют, осадок промывают на фильтре холодным метанолом (или этанолом в случае этиловых эфиров), затем эфиром и высушивают в вакууме над гранулированным едким натром; перекристаллизацию проводят из соответствующего спирта. б) Если образуется растворимый продукт реакции, то реакционную смесь выпаривают в вакууме досуха. Сухой остаток, который может быть получен в виде кристаллов или сиропа, растирают с безводным эфиром, образовавшуюся суспензию фильтруют и кристаллы промывают сухим эфиром. После высушивания в вакууме над гранулированным едким натром для удаления избытка хлористого водорода хлоргидрат аминоэфира перекристаллизовывают из соответствующего спирта с добавлением безводного эфира.

Поскольку скорость этерификации изменяется в зависимости от степени стерических препятствий, обусловленных боковой цепью аминокислоты, для некоторых стерически более экранированных аминокислот иногда требуются более жесткие условия этерификации, чем приведенные выше. Так, например, при насыщении суспензии DL-*трет*-лейцина в метаноле сухим хлористым водородом образуется исключительно хлоргидрат неэтерифицированной аминокислоты; та же самая реакционная смесь после стояния при комнатной температуре в течение 18 *час* и последующего кипячения в безводных условиях в течение 6 *час* дает нужный продукт реакции с прекрасным выходом [371]. Следует также отметить, что для достижения полного превращения аминодикарбоновых кислот, т. е. глутаминовой и аспарагиновой кислот, в хлоргидраты их соответствующих диэфиров рекомендуется проводить этерификацию при кипячении (методика 49). Аналогичный метод должен быть использован и для таких аминокислот, как лизин, который без нагревания очень медленно растворяется в спиртовом растворе хлористого водорода.

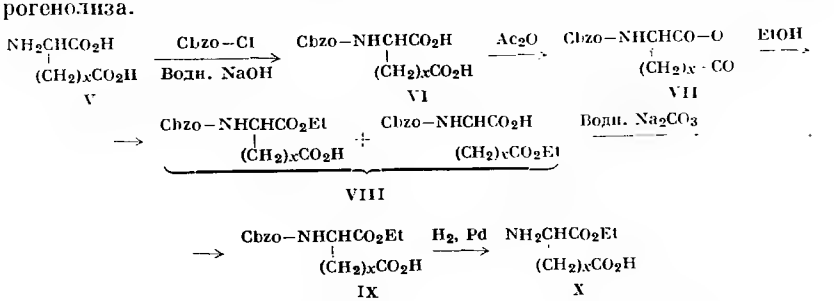
Типичная методика 49. Этерификация аминокислот (метод II). В круглодонную колбу, снабженную обратным холодильником и газоприводной трубкой, помещают 20 *г* соответствующей аминокислоты и 300 *мл* абсолютного метанола или этанола. Затем через газоприводную трубку пропускают ток сухого хлористого водорода и при этом реакционную смесь кипятят в течение 1—3 *час*. Смесь оставляют еще на 1 *час* при комнатной температуре и далее обрабатывают как в методике 48.

В дополнение к изложенному выше заслуживает более детального рассмотрения селективная этерификация α- или ω-карбоксильных групп дикарбоновых аминокислот, т. е. глутаминовой и аспарагиновой кислот. Удобный метод получения γ-этилового эфира глутаминовой кислоты, практически свободного от каких-либо примесей α-эфира, был описан Бергманом и Зервасом [604]. Этот метод, в сущности, заключается в добавлении глутаминовой кислоты к раствору приблизительно двух эквивалентов хлористого водорода в абсолютном этаноле. При встряхивании смеси при комнатной температуре аминокислота переходит в раствор, образуя γ-этилглутамат, который выделяется в виде хлоргидрата при добавлении эфира к упаренной реакционной смеси. Последующая модификация этого метода различными исследователями [367, 391, 482, 602—608] позволила получать γ-метиловый и γ-этиловый эфиры глутаминовой кислоты как в виде свободных оснований, так и в виде хлоргидратов (методика 50). Необходимо отметить использование вместо хлористого водорода в качестве катализаторов этерификации хлористого тионила [472] и хлористого ацетила [367] (методика 51).

Типичная методика 50 [482]. γ-Этил-L-глутамат. Суспензию 35 *г* (0,24 моля) L-глутаминовой кислоты в 350 *мл* абсолютного этанола, содержащую 23 *г* (0,63 моля) сухого хлористого водорода, встряхивают до полного растворения осадка (20 *мин*). Раствор разбавляют абсолютным этанолом до объема 1 *л* и по каплям добавляют триэтиламин до щелочной реакции. После стояния смеси при 0—5° в течение 16 *час* продукт реакции отфильтровывают, промывают холодным абсолютным этанолом, эфиром и высушивают на воздухе, а затем в вакууме; выход 29 *г* (70%). Вещество после перекристаллизации из водного спирта плавится при 194°.

Типичная методика 51 [472]. γ-Метил-L-глутамат·HCl. К охлажденному раствору 20 *мл* хлористого тионила в 140 *мл* метанола добавляют 30 *г* L-глутаминовой кислоты и смесь интенсивно встряхивают в течение нескольких минут до растворения большей части осадка. Затем реакционную смесь оставляют на 25 *мин* при 20° и добавляют к ней 400 *мл* эфира. Осадок хлоргидрата γ-метил-L-глутамата отфильтровывают, промывают эфиром и высушивают в вакууме над гранулированным едким натром; выход 24 *г* (60% теории), т. пл. 154°.

В то время как ω-эфиры дикарбоновых аминокислот могут быть получены довольно легко, до сих пор не было описано никакого удобного метода, позволяющего провести селективную этерификацию α-карбоксильной группы этих аминокислот. Тем не менее α-этиловые эфиры аспарагиновой и глутаминовой кислот были получены Ле Квесном и Янгом [609, 610] косвенным путем. Метод заключается в первоначальном получении карбобензоксиаминокислоты (VI; $x=1$ или 2), которая после превращения в ангидрид (VII) путем обработки уксусным ангидридом вводилась в реакцию с этанолом, приводя к смеси карбобензоксипроизводных α- и ω-эфиров аминокислоты (VIII). Успешное фракционирование этой смеси удалось провести обработкой ее водным раствором бикарбоната натрия и полученный таким образом чистый α-этиловый эфир карбобензоксипроизводного аминокислоты (IX) был превращен в нужный α-этиловый эфир аминокислоты (X) путем каталитического гидрогенолиза.



В табл. 79 и 80 приведены метиловые и этиловые эфиры нескольких наиболее обычных аминокислот, большинство из которых может быть получено путем использования или описанных выше методов, или незначительных их модификаций. Поскольку некоторые хлоргидраты аминоэфиров являются довольно гигроскопичными, их целесообразно хранить в вакууме над пятиокисью фосфора.

23. Бензиловые эфиры аминокислот. Использование бензиловых эфиров в синтетической пептидной химии иногда дает некоторые преимущества по

Таблица 79

Хлоргидраты метиловых эфиров аминокислот

Хлоргидраты метиловых эфиров	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [е]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
DL-Аланин	158—158,5	—	—	—	351, *611*
L-Аланин	154—155 [а]	—	—	—	*432a*, 611a
DL-α-Амино-*н*-масляная кислота	150—151	—	—	—	612
D-Аргинин (ди-HCl)	—	—17,0	25	5%, H_2O	613
L-Аргинин (ди-HCl)	195 (с разл.)	+17,2	25	5%, H_2O	*141*, 471a *613*
DL-Аспарагиновая кислота (диэфир)	111—114	—	—	—	509
L-Аспарагиновая кислота (диэфир)	116—117	—	—	—	613a
DL-Аспарагиновая кислота (β-эфир)	190	—	—	—	389
L-Аспарагиновая кислота (β-эфир)	191—193	+21,4	25	1,0%,этанол—вода(1:3)	389, *508*, 614
L-Цистеин	140	—2,9	20	10 %, метанол	*548*, 615
S-Бензил-DL-цистеин	112	—	—	—	616
Монокарбобензокси-L-цистин (диэфир)	159—160	—82,5	25	1,0 %, метанол	876
S-Бензил-L-цистеин	150	—13,9	21	2,9 %, H_2O	432a, *472*
L-Цистин (диэфир; ди-HCl)	173	—38,4	20	4 %, метанол	*145*, 617
3, 4-Диоксифенил-DL-аланин	180—181	—	—	—	526
DL-Глутаминовая кислота (диэфир)	149	—	—	—	618
L-Глутаминовая кислота (γ-эфир)	167 [б]	—	—	—	389, *472*
L-Глутамин	145—147	—	—	—	619
Глиция	175	—	—	—	603
DL-Гистидин (дихлоргидрат)	191—193	—	—	—	509
L-Гистидин (дихлоргидрат)	200—201	—	—	—	231, 620, *621*
im-Бензил-L-гистидин (дихлоргидрат)	111—115	—	—	—	484
L-Оксипролин	162—164 (с разл.)	—	—	—	169
D-Изолейцин	98—100	—26,6	21	2%, H_2O	622
L-Изолейцин	100,5—101	+26,6	23	2%, H_2O	622, *623*
DL-Лейцин	113—114	—	—	—	624
D-Лейцин	149—150	—	—	—	469
L-Лейцин	150—151	—13,4	26	5%, H_2O	*179*, 624, 625
DL-Лизин (дихлоргидрат)	218 (с разл.)	—	—	—	*141*, 149
L-Лизин (дихлоргидрат)	212	—	—	—	626
ε-Карбобензокси-L-лизин	117	+16,7	21	2,0%, метанол	358, *471a*
ε-Тозил-L-лизин	135	—	—	—	626a
DL-Метионин	109—111	—	—	—	509, *627*
D-Метионин	149—150	—26,3	21	5%, H_2O	*490*, *627*
L-Метионин	150	+26,8	19	5%, H_2O	*490*, *627*
Нитро-L-аргинин	159—161	+17,5	25	3,2%, метанол	*491*, 541
DL-Норлейцин	122—123	—	—	—	612
DL-Норвалин	116—117	—	—	—	612
δ-Карбобензокси-L-орнитин	140—141	+15,6	19	3% метанол	372, 373, *421*
DL-Фенилаланин	158	—	—	—	509, *628*
D-Фенилаланин	—	+3,9	25	2,7%, H_2O	423
L-Фенилаланин	159—161	—4,6	25	5%, H_2O	*508*, 629
L-Пролин	—	—40,1	24	0,5%, H_2O	423
DL-Серин	133—134 [в]	—	—	—	141, 509, *630*
L-Серин	165—166	+0,9	24	6%, H_2O	183, 471a, *631*
O-Бензил-L-серин	169	—2,7	13	3%, H_2O	828
β-2-Тиенил-DL-аланин	160	—	—	—	632
DL-Треонин	125 (с разл.)	—	—	—	633
DL-*алло*-Треонин	150 (с разл.)	—	—	—	633
DL-Триптофан	225 (с разл.)	—	—	—	*399*, 509, *634*, 635
L-Триптофан	214 (с разл.)	—	—	—	471a, *636*
L-Тирозин	190	+74,3	23	3%, пиридин	*472*, 637, 830
O-Ацетил-L-тирозин	201 (с разл.)	—	—	—	637
O-Бензил-L-тирозин	181	+11,5	25	4%, метанол	830
DL-Валин	120—122 [г]	—	—	—	509, *622*, 638
D-Валин	167,5—168	—15,6	21	2%, H_2O	543a, *622*
L-Валин	167,5—168 [д]	+15,5	21	2%, H_2O	373, 421, 471a, 543a, 605, *622*, 629, 638a

[а] Указана также температура плавления 109—110° [611a]. [б] Получено также свободное основание с т. пл. 182° (с разл.) [367]. [в] Указаны также температуры плавления 112—114° [630] и 114° [141]. [г] В других работах указаны точки плавления 90—97° [638] и 112—113° [509]. [д] Указаны также температуры плавления 146—149° [373], 161—162° [605], 170° [421, 629] и 175° [471a]. [е] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

Таблица 80

Хлоргидраты этиловых эфиров аминокислот

Хлоргидраты этиловых эфиров	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [г]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
DL-Аланин	86,5—87	—	—	—	509, *639*
L-Аланин	76	−11,4	25	2%, 5 н. HCl	*468*, *605*
L-α-Амино-*н*-масляная кислота	—	+6,1	25	2%, 5 н. HCl	468
DL-Аспарагиновая кислота (α-эфир) [а, б]	165	—	—	—	640
DL-Аспарагиновая кислота (β-эфир) [а]	200 (с разл.)	—	—	—	*640*, 641
L-Аспарагиновая кислота (диэфир)	109—110	+8,1	24	1%, H_2O	528, *642*
L-Аспарагиновая кислота (β-эфир) [в]	199—200	—	—	—	*643*, 644
L-Цистеин	115	—	—	—	645
S-Бензил-D-цистеин	163	+28,1	26	2%, этанол	473
S-Бензил-L-цистеин	155	−25,4	—	2,3%, H_2O	*390*, 646
S-*п*-Нитробензил-L-цистеин	172—173	+27,3	25	1,1%, 95% этанол	512
S-Тиофенил-L-цистеин	130—131,5	−43,6	19	0,9%, этанол	647
L-Цистин (диэфир, ди-HCl)	188	−48,0	20	3,7%, H_2O	617
DL-Глутаминовая кислота (γ-эфир)	105—107	—	—	—	608
L-Глутаминовая кислота (диэфир)	113—114	+22,4	—	4%, H_2O	448, *648*—651
L-Глутаминовая кислота (α-эфир) [а]	116—118	—	—	—	610
L-Глутаминовая кислота (γ-эфир)	134—135	—	—	—	389, 604—*606*
L-Глутаминовая кислота (γ-эфир) [а]	194	+14	—	1%, H_2O	367, 482, 604, *606*
Глицин	144	—	—	—	509, *603*, 652
L-Оксипролин	147—148	—	—	—	182
L-*алло*-Оксипролин	148—151	—	—	—	657
DL-Лейцин	112	—	—	—	509, *653*
L-Лейцин	134	+18,4	—	5%, этанол	653
ε-Тозил-L-лизин	129—131	+8,5	23,5	1%, H_2O	393
L-Метионин	81—82	+18,7	21	2,2%, этанол	654
L-Норвалин	—	+9,5	25	2%, 5 н. HCl	468
L-Лизин	143,5—144,5	+11,7	17	2,5%, этанол	*655*, 656
ε-Карбобензокси-L-лизин	115,5—116,5	+12,2	17	2,1%, 0,1 н. HCl	584а
DL-Фенилаланин	127	—	—	—	628
L-Фенилаланин	—	−7,6	20	3%, H_2O	224
4-Метокси-L-пролин	150—152	—	—	—	657
L-Серин	130—131	−4,8	—	2,1%, H_2O	498
O-Бензил-DL-серин	118	—	—	—	*828*, 829
DL-Треонин	116—117	—	—	—	498
L-Триптофан	225—226	—	—	—	*658*, 659
DL-Тирозин	105—106	—	—	—	509
L-Тирозин	166	—	—	—	492
O-Бензоил-L-тирозин	225 (с разл.)	—	—	—	646
O-Метил-L-тирозин	202	−4,9	22	2%, H_2O	660
L-Валин	102—104	+6,7	24	2%, H_2O	*507*, 610

[а] Свободное основание.

[б] Описан также α-этиловый эфир L-аспарагиновой кислоты в виде свободного основания с т. пл. 181—183° [609].

[в] Для свободного основания указана температура плавления 200° [661].

[г] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

сравнению с соответствующими метиловыми или этиловыми эфирами. В то время как последние должны омыляться в конечной стадии пептидного синтеза, применение бензиловых эфиров вследствие возможности их удаления одновременно с карбобензоксигруппой путем каталитического гидрогенолиза устраняет необходимость в дополнительной стадии омыления при использовании N-карбобензоксипроизводных. Кроме того, бензиловые эфиры оказываются весьма ценными в тех случаях, когда необходимо устранить обработку щелочами, а именно при использовании таких лабильных к щелочам ацильных защитных групп, как фталильная и трифторацетильная группы. Однако, несмотря на эти очевидные преимущества, практическое использование бензиловых эфиров было до недавнего времени в значительной степени ограниченным ввиду отсутствия удобных методов получения этих производных с достаточно высокими выходами.

Получение хлоргидрата бензилового эфира глицина (XIII) действием хлористого водорода на суспензию глицина (XI; R=H) в бензиловом спирте (XII) впервые описано Абдергальденом и Судзуки [181] в 1928 г. В отличие от аналогичной реакции с метанолом или этанолом этерификация в случае бензилового спирта протекает достаточно трудно и ведет к низким выходам соответствующих производных. Это может быть связано, в частности, с наличием значительных пространственных препятствий, обусловленных объемистой бензильной группой, а также с тем, что в данной реакции равновесие сдвинуто в нежелательную сторону вследствие трудности полного удаления воды из реакционной смеси; кроме того, значительные осложнения связаны с необходимостью упаривания растворов образующихся производных в высококипящем бензиловом спирте при такой температуре, которая не вызывает сильного разложения продукта реакции. Последующая модификация этого метода тем не менее позволила успешно использовать его для получения хлоргидратов бензиловых эфиров L-пролина [642] и L-оксипролина [169], а также хлоргидрата дибензил-L-глутамата [662] (методика 52). Однако поскольку этот метод связан с необходимостью проведения трудоемких операций, его дальнейшее использование оказалось нецелесообразным.

$$\underset{\text{XI}}{NH_2CHRCO_2H} + \underset{\text{XII}}{C_6H_5CH_2OH} \xrightarrow{HCl} \underset{\text{XIII}}{HCl\cdot NH_2CHRCO_2CH_2C_6H_5} + \underset{\text{XIV}}{H_2O}.$$

Типичная методика 52 [662]. Хлоргидрат дибензилового эфира L-глутаминовой кислоты. Суспензию 10 *г* (0,068 моля) L-глутаминовой кислоты в 150 *мл* бензилового спирта нагревают до 55° и в нее при перемешивании магнитной мешалкой пропускают в течение часа ток сухого хлористого водорода, причем температура реакционной смеси постепенно повышается. Смесь переносят в прибор для вакуумной перегонки, добавляют 75 *мл* бензола и раствор концентрируют в вакууме при температуре бани около 40°; остаток выдерживают в вакууме (приблизительно 10 *мм*) еще 1 *час* при температуре бани 85° и смесь вновь насыщают в течение часа сухим хлористым водородом. Осадок не вошедшего в реакцию хлоргидрата глутаминовой кислоты (около 2 *г*) отфильтровывают, к фильтрату добавляют бензол и описанные выше операции повторяют еще дважды; после удаления примерно половины бензилового спирта в вакууме (на паровой бане) образовавшийся хлоргидрат дибензил-L-глутамата осаждают эфиром (5—7 объемами) и перекристаллизовывают из смеси метанола с эфиром. Выход чистого соединения составляет 15 *г* (61%); т. пл. 100—102°; $[\alpha]_D^{22}=+9{,}4°$ (1,5%, в 0,1 н. HCl). Аналогичная методика может быть использована для получения хлоргидратов бензиловых эфиров глицина [181], L-пролина [642] и L-оксипролина [169] (табл. 81).

Таблица 81

Соли бензиловых эфиров аминокислот

Бензиловые эфиры	Т. пл., °С	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	Удельное вращение: температура, °С	Удельное вращение: концентрация и растворитель	Литература
Бензолсульфонаты					
S-Бензил-L-цистеин	134—135	—	—	—	482а
L-Глутаминовая кислота (диэфир)	109—113	+8,4	21	1,9%, 96%-ный этанол	677
Глицин	135,5—137	—	—	—	670
DL-Серин	115—116				498
Бромгидраты					
DL-Аланин	107				664
β-Аланин	57	—	—	—	664
L-Аспарагиновая кислота (диэфир)	117	−3,9	23	9,6%, H_2O	664
S-Бензил-L-цистеин	127	−21,7	23	1,7%, 96%-ный этанол	664
Глицин	147	—	—	—	664
L-Глутаминовая кислота (диэфир)	100—102[а]	+9,3	21	1,9%, 96%-ный этанол	677
DL-Фенилаланин	200	—	—	—	664
L-Фенилаланин	209	+5,4	25	2,3%, этанол	665
DL-Валин	109	—	—	—	664
Хлоргидраты					
D-Аланин	139—140	+10,5	25	2%, 0,1 н. HCl	666
L-Аланин	140	−10,9	25	2%, 0,1 н. HCl	*666*, 668
L-Аргинин (монохлоргидрат)	152 (с разл.)	−9,2	25	1,9%, 40%-ный этанол	678
DL-Аспарагиновая кислота (диэфир)	108—109	—	—	—	674
L-Аспарагиновая кислота (диэфир)	123—124	−2,0	20	2%, хлороформ	672, *673*
L-Аспарагиновая кислота (α-бензиловый-β-метиловый диэфир)	115—120	−23,0	20	4%, H_2O	673
S-Бензил-DL-цистеин	154—154,5	—	—	—	432а
S-Бензил-D-цистеин	126	+29,0	22	1%, H_2O	390
S-Бензил-L-цистеин	129—130[б]	−18,9	22	1,2%, этанол	390, *432а*, 482а
L-Цистин (диэфир)	-	+32,8	25	0,7%, 0,1 н. HCl	668

Продолжение табл. 81

Бензиловые эфиры	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [г]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
L-Цистеин	106	−26,6	25	1%, 0,1 н. HCl	668
DL-Глутаминовая кислота (диэфир)	119—123	—	—	—	677
D-Глутаминовая кислота (диэфир)	100—102	−9,0	25	2,0%, 0,1 н. HCl	*662*, 679
L-Глутаминовая кислота (диэфир)	100—102	+9,4	22	1,5%, 0,1 н. HCl	*662*, 677, 679
Глицин	139	—	—	—	*474*, 663, 666
L-Оксипролин	147—150	—	—	—	669, 670
L-Лейцин	129	−8,0	30	2%, 0,1 н. HCl	169
ε-Карбобензокси-D-лизин	139	+9,5	25	0,5%, 0,1 н. HCl	668, *669*
ε-Карбобензокси-L-лизин	139	−9,9	22	0,5%, 0,1 н. HCl	667
DL-Фенилаланин	196	—	—	—	667
L-Фенилаланин	203	−22,5	25	1%, 0,25 н. HCl	*668*, 669
L-Пролин	148—148,5	—	—	—	668
DL-Серин	154	—	—	—	169, *642*
D-Тирозин	200	+20,8	25	0,5%, 0,1 н. HCl	498
L-Тирозин	205	−23,3	25	1%, 0,1 н. HCl	679а
Иодгидраты					
L-Цистеин	139 (с разл.)	—	—	—	668
Нитраты					
L-Глутаминовая кислота (диэфир)	134—137	+10,9	20	1,1%, 96% этанол	474
п-Толуолсульфонаты					
D-Аланин	113—114	+6,9	27	2%, H_2O	677
L-Аланин	114	−6,8	13	2%, H_2O	*454*, 680
β-Аланин	138—139	—	—	—	680
L-α-Амино-*н*-масляная кислота	117	−6,3	13	2%, этанол	680
α-Аминоизомасляная кислота	154	—	—	—	680
L-Аспарагиновая кислота (диэфир)	158—160	+1,0	25	2%, метанол	680
S-Бензил-L-цистеин	162—163	−20,9	25	2%, метанол	*459*, 673, 680
Монокарбобензокси-L-цистин (диэфир)	133—134	−37,0	25	1%, ацетон	390, 432а, *459*
L-Глутаминовая кислота (диэфир)	144—145	+7,6	25	2%, метанол	876
Глицин	132—134	—	—	—	*459*, 680
L-Оксипролин	107—109	−21,8	13	2%, H_2O	*459*, 680
L-Изолейцин	153—154	−0,1	25	2%, метанол	680
D-*алло*-Изолейцин	162—164	−0,2	25	2%, метанол	459
L-Лейцин	158,5—160	−1,7	25	2%, метанол	459
L-Лизин (дитозилат)	147—149	−2,8	13	2%, H_2O	*459*, 680
L-Норлейцин	127	−9,0	13	2%, этанол	680
L-Фенилаланин	170,5—171,5	−7,2	25	2%, метанол	680
L-Тирозин	179—180,5	−12,2	25	2%, метанол	459
L-Валин	158—160	+1,2	25	2%, метанол	459
Свободные основания					
ω-Карбобензокси-L-аргинин	129—130	—	—	—	904
L-Аспарагиновая кислота (β-эфир)	154	+11,4	23	7,7%, H_2O	664
Моно-α-карбобензокси-L-цистин (α-эфир)	—	−191,2	25	0,5%, метанол+1 экв. HCl	876
D-Глутаминовая кислота (α-эфир)	147—148	−11,9	25	2,0%, 0,1 н. HCl	662
L-Глутаминовая кислота (α-эфир)	147—148	+12,2	25	2,9%, 0,1 н. HCl	662
D-Глутаминовая кислота (γ-эфир)	—	−19,1	25	4,7%, CH_3COOH	367
L-Глутаминовая кислота (γ-эфир)	169—170[в]	+18,7	25	7%, CH_3COOH	*367*, 471а, 676
L-Тирозин	120	−12,5	25	2%, метанол	675

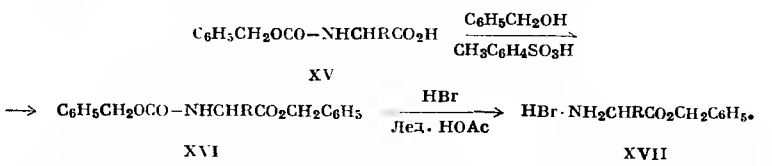
[а] Изоморфная форма плавится при 81—83°.

[б] Для этого соединения была указана также температура плавления 148—151° [674].

[в] В другой работе [741а] указаны температура плавления 189° и $[\alpha]_D^{23}$+27,7° (2,5%, в 1 н. HCl).

[г] В тех случаях, когда указано несколько литературных ссылок, курсивом обозначена ссылка на ту работу, из которой приведены физические константы.

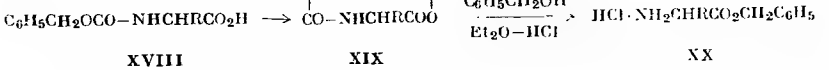
Поскольку прямая этерификация аминокислот бензиловым спиртом первоначально не могла служить удовлетворительным общим методом получения бензиловых эфиров аминокислот, было обращено внимание на менее прямые методы, связанные с использованием в качестве исходных соединений различных производных аминокислот. Так, Руггли, Ратти и Хенци [663] получили с довольно высоким выходом хлоргидрат бензилового эфира глицина действием бензилового спирта на хлоргидрат хлорангидрида глицина [251]. С другой стороны, Харингтон и Мид [474] получили иодгидрат бензилового эфира L-цистеина действием бензилового спирта на дихлорангидрид-*бис*-карбобензокси-L-цистина с последующим декарбобензоксилированием и восстановительным расщеплением образовавшегося дибензилового эфира *бис*-карбобензокси-L-цистина иодистым фосфонием в ледяной уксусной кислоте. Аналогичным, хотя и более простым методом Бен-Ишай и Бергер [664, 665] получили бромгидраты бензиловых эфиров (XVII) различных аминокислот путем катализируемой *п*-толуолсульфокислотой конденсации соответствующих карбобензоксиаминокислот (XV) с бензиловым спиртом с последующим селективным расщеплением образовавшихся при этом бензиловых эфиров карбобензоксиаминокислот (XVI) действием раствора сухого бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте (методика 53).



Типичная методика 53 [664]. Бензиловые эфиры карбобензоксиаминокислот. Раствор 0,05 моля соответствующей карбобензоксиаминокислоты (методики 28—30) в 75 *мл* бензола кипятят с 8 *г* бензилового спирта и 0,75 *г* *п*-толуолсульфокислоты с азеотропной отгонкой воды путем использования аппарата Дина — Старка. Кипячение продолжают до тех пор, пока не отгонится теоретическое количество воды (1—3 *час*). Бензольный раствор промывают 5%-ным водным раствором бикарбоната калия (2×25 *мл*), высушивают безводным сульфатом натрия и упаривают. После перекристаллизации остатка из петролейного эфира с выходом около 90% получают требуемое соединение. Температуры плавления полученных таким образом бензиловых эфиров различных карбобензоксиаминокислот следующие: DL-аланин 59°; β-аланин 22°; S-бензил-DL-цистеин 66°; глицин 72°; DL-фенилаланин 84°; DL-валин 45°.

Декарбобензоксилирование бензиловых эфиров карбобензоксиаминокислот. К 0,01 моля бензилового эфира карбобензоксиаминокислоты, содержащегося в реакционной колбе, снабженной хлоркальциевой трубкой, добавляют 10 *г* насыщенного (36%) раствора сухого бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте. Сразу же после добавления реагента начинается выделение углекислого газа. После того как выделение газа заканчивается (приблизительно через 15 *мин*), добавляют 100 *мл* сухого эфира для осаждения образовавшегося бромгидрата бензилового эфира аминокислоты. Эфирный раствор оставляют на несколько часов при 0°, выпавшую соль отфильтровывают, несколько раз промывают безводным эфиром и высушивают в вакууме над серной кислотой и гранулированным едким натром. В табл. 81 приведены температуры плавления полученных таким образом бромгидратов бензиловых эфиров аминокислот.

Об использовании N-карбоксиангидридов аминокислот в качестве промежуточных соединений для синтеза бензиловых эфиров аминокислот было впервые сообщено Бергманом, Зервасом и Россом [358]. Получение этих промежуточных соединений может быть обычно осуществлено исходя из свободных аминокислот или их карбобензоксипроизводных (XVIII), согласно методикам 16—19. Последующая реакция N-карбоксиангидрида (XIX) с бензиловым спиртом в эфирном растворе хлористого водорода приводит к соответствующему бензиловому эфиру аминокислоты в виде его хлоргидрата (методика 54). Этот метод был использован для получения хлоргидратов бензиловых эфиров глицина [666], D- и L-аланина [666], ε-карбобензокси-D- и L-лизина [667] и S-бензил-L-цистеина [390].



Типичная методика 54 [666]. Хлоргидрат бензилового эфира глицина. Из 0,06 моля глицина или карбобензоксиглицина получают N-карбоксиангидрид глицина (см. методики 16—19). Ангидрид переносят с использованием 30 *мл* бензилового спирта в колбу емкостью 500 *мл*, содержащую 200 *мл* эфира, предварительно насыщенного хлористым водородом при 0°. При нагревании смеси до 25° с одновременным перемешиванием ее магнитной мешалкой начинается выделение углекислого газа и сразу после растворения ангидрида наблюдается кристаллизация хлоргидрата бензилового эфира глицина в виде длинных игл. Смесь перемешивают при 25° еще 12 *час*, осадок хлоргидрата отфильтровывают и промывают эфиром. Перекристаллизация из смеси метанола с сухим эфиром дает 8,8 *г* (70%, считая на карбобензоксиглицин) вещества с т. пл. 140°.

Легкая доступность бензиловых эфиров ряда аминокислот на основе указанных выше методов привела к их широкому использованию в пептидном синтезе. Однако, поскольку большинство из методов получения бензиловых эфиров имело косвенную природу, это побудило к дальнейшим поискам более удобных путей синтеза этих ценных соединений. В результате таких поисков Эрлангером и Холлом [668] был описан интересный метод, состоящий, в принципе, в прямом взаимодействии свободной аминокислоты и бензилового спирта в присутствии полифосфорной кислоты в качестве дегидратирующего агента (методика 55). Приложение этой реакции к различным аминокислотам привело к получению бензиловых эфиров, выделяемых с хорошим выходом в виде соответствующих хлоргидратов. При окислении полученного таким образом бензилового эфира L-цистеина иодом в этанольном растворе было выделено соответствующее производное L-цистина. Бензиловые эфиры оптически активных аминокислот не обнаруживают заметной рацемизации, что было показано измерением оптического вращения свободных аминокислот, регенерированных из соответствующих бензиловых эфиров путем каталитического гидрогенолиза.

Типичная методика 55. Полифосфорная кислота. Этот реагент легко получают путем осторожного добавления 34,5 *мл* 85%-ной фосфорной кислоты к 41 *г* пятиокиси фосфора при перемешивании.

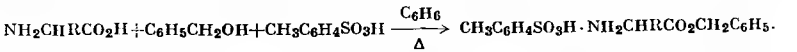
Хлоргидрат бензилового эфира L-фенилаланина. В колбу, снабженную водоотделителем Дина — Старка и содержащую раствор 5 *г* полифосфорной кислоты в 25 *мл* бензилового спирта, добавляют 2 *г* (0,012 моля) L-фенилаланина и смесь перемешивают на масляной бане 4 *час* при 90—95° (аминокислота

растворяется через несколько минут). Затем раствор выливают в 200 *мл* воды, содержащей около 10 *мл* концентрированной соляной кислоты, добавляют эфир, водный слой отделяют, а эфирный слой трижды промывают 2%-ной HCl. Объединенный водный раствор подщелачивают до pH около 10 путем добавления твердого карбоната натрия и встряхивают с эфиром (3×100 *мл*). Эфирный экстракт высушивают безводным сульфатом магния и насыщают сухим хлористым водородом. При этом осаждается хлоргидрат бензилового эфира L-фенилаланина, выход которого составляет около 65%. Перекристаллизацию проводят из смеси метанола с эфиром; т. пл. 203°; $[\alpha]_D^{25}$—22,5° (1%, в 0,25 н. HCl). Аналогичным методом или путем его незначительной модификации могут быть получены также хлоргидраты бензиловых эфиров L-аланина, L-цистеина, L-цистина, L-лейцина, DL-фенилаланина и L-тирозина (табл. 81).

Более удобный в сравнении с описанными выше метод синтеза бензиловых эфиров аминокислот основан на данных Миллера и Уэлша [669], установивших, что бензолсульфокислота может служить катализатором прямой этерификации аминокислот бензиловым спиртом вместо хлористого водорода. При использовании первого катализатора аминокислоты становятся растворимыми в избытке бензилового спирта в виде их солей с бензолсульфокислотой и последующая перегонка таких растворов при температурах не выше 130° приводит к выделению бензолсульфонатов бензиловых эфиров аминокислот с хорошими выходами. Существенное усовершенствование этого метода, введенное Чиперой и Николсом [670], заключается в использовании азеотропной перегонки для удаления воды, выделяющейся при реакции этерификации. Благодаря этому отпала необходимость в использовании больших избытков бензилового спирта и высокой температуры для удаления образующейся при реакции воды и, следовательно, для сдвига равновесия в нужном направлении. Согласно дальнейшему видоизменению этого метода, предложенному Коллоничем и Вита [671], предполагается использование высокой реакционной способности эфиров борной кислоты по отношению к воде для сдвига равновесия реакции в направлении образования нужных бензиловых эфиров без какого-либо применения техники азеотропной перегонки. Рассмотренный выше метод Миллера и Уэлша и его последующие модификации послужили основой для синтеза бензиловых эфиров L-аспарагиновой кислоты (диэфир) [672, 673], DL-аспарагиновой кислоты (диэфир) [674], S-бензил-L-цистеина [390, 674], глицина [669, 670], L-лейцина [669], DL-фенилаланина [669] и L-тирозина [675] (табл. 81). Недавнее использование Идзумия и Макисуми [680], в сущности, этого же метода привело к получению *п*-толуолсульфонатов бензиловых эфиров D-, L- и β-аланина, L-α-амино-*н*-масляной кислоты, α-аминоизомасляной кислоты, L-аспарагиновой кислоты, L-глутаминовой кислоты, глицина, L-оксипролина, L-лейцина, L-лизина и L-норлейцина.

В лаборатории автора установлено [459], что для препаративного получения бензиловых эфиров аминокислот наиболее целесообразно использовать модификацию метода азеотропной перегонки Чиперы и Николса [670], при которой выделяющаяся в реакции этерификации вода улавливается и измеряется с помощью аппарата Дина — Старка (рис. 26). Синтез в принципе заключается в азеотропной перегонке смеси соответствующей аминокислоты (XXI), *п*-толуолсульфокислоты (XXIII), бензилового спирта (XXII) и бензола (методика 56). После отделения теоретического количества воды добавление к реакционной смеси бензола или эфира приводит к осаждению нужного бензилового эфира в виде его соли с *п*-толуолсульфокислотой

(XXIV), причем выходы обычно составляют 70—95% теории. Поскольку температура реакционной смеси никогда не превышает 80°, опасность рацемизации при использовании оптически активных аминокислот сводится к минимуму и исключается возможность заметного разложения продукта реакции.



Этот метод был успешно применен для синтеза *п*-толуолсульфонатов бензиловых эфиров L-аспарагиновой кислоты, S-бензил-L-цистеина, L-глутаминовой кислоты, глицина, L-изолейцина, D-*алло*-изолейцина, L-лейцина, L-фенилаланина, L-тирозина и L-валина (табл. 81). Превращение *п*-толуолсульфонатов бензиловых эфиров аминокислот в соответствующие хлоргидраты может быть осуществлено путем первоначального превращения первых в свободные основания и последующей обработки их эфирных растворов сухим хлористым водородом [669] (методика 57).

Типичная методика 56. *п*-Толуолсульфонат бензилового эфира глицина [459]. В круглодонную колбу емкостью 500 *мл* помещают 18,8 *г* (0,25 моля) глицина, 48,5 *г* (0,255 моля) *п*-толуолсульфокислоты (моногидрата), 100 *мл* бензилового спирта и 50 *мл* бензола. Смесь кипятят с азеотропной отгонкой воды в аппарате Дина — Старка (рис. 26); вскоре после закипания смеси образуется прозрачный раствор. Когда отгонка воды прекращается (около 9 *мл*), реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и добавляют к ней 500 *мл* эфира. Смесь выдерживают приблизительно 2 *час* при 0°, кристаллический осадок *п*-толуолсульфоната бензилового эфира глицина отфильтровывают, промывают безводным эфиром и перекристаллизовывают из смеси метанола с эфиром. Выход 90% теории; т. пл. 132—134°.

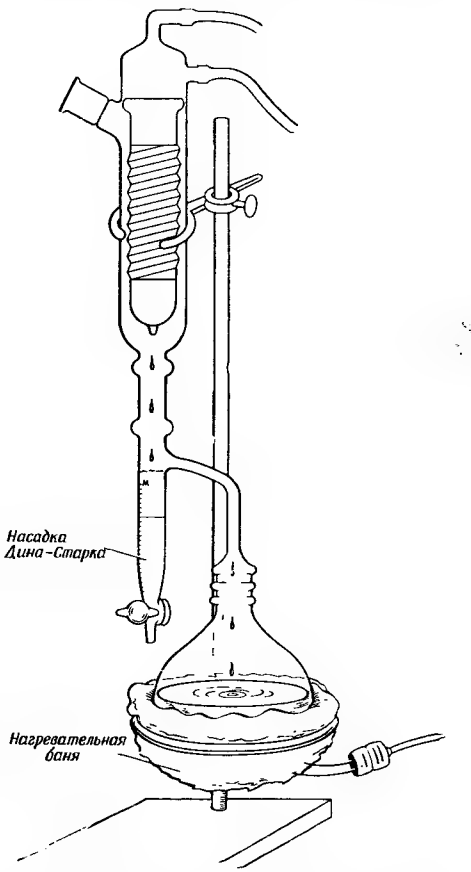


Рис. 26. Аппарат Дина — Старка для азеотропной перегонки.

Типичная методика 57 [669]. Хлоргидрат бензилового эфира глицина. К суспензии 67,4 *г* (0,2 моля) *п*-толуолсульфоната бензилового эфира глицина (методика 56) в 300 *мл* хлороформа при перемешивании добавляют (0—5°,

10 *мин*) 20 *г* (0,2 моля) триэтиламина. После добавления 1 *л* абсолютного эфира смесь оставляют еще на 10 *мин*, затем отфильтровывают осадок триэтиламмониевой соли *п*-толуолсульфокислоты и эфирный раствор концентрируют в вакууме при полном отсутствии влаги. Оставшееся масло растворяют в безводном эфире и эфирный раствор насыщают сухим хлористым водородом до полного прекращения осаждения соли. Хлоргидрат, образующийся с выходом около 70%, может быть перекристаллизован из ацетата монометилового эфира этиленгликоля (ацетат метилцеллосольва); т. пл. 131—132°.

В дополнение к изложенному выше необходимо остановиться на получении бензиловых α- и ω-полуэфиров глутаминовой и аспарагиновой кислот. β-Бензиловый эфир L-аспарагиновой кислоты был получен путем селективного омыления дибензилового эфира карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты до соответствующего β-бензилового эфира [364] и последующего декарбобензоксилирования сухим бромистым водородом в ледяной уксусной кислоте [664] (методика 53). Получение α-бензилового эфира D- и L-глутаминовой кислоты было осуществлено Заксом и Брандом [662] путем избирательного расщепления дибензилглутамата раствором иодистоводородной кислоты в ледяной уксусной кислоте (методика 58). С другой стороны, синтез γ-бензилового эфира глутаминовой кислоты наиболее прямым путем можно провести действием бензилового спирта на глутаминовую кислоту в присутствии иодистоводородной кислоты [367] или *п*-толуолсульфокислоты [676] или же действием хлористого бензила на медный комплекс глутаминовой кислоты в слабощелочной водной среде [367]. Удобный метод получения γ-бензилглутамата, использованный в лаборатории автора, заключается в прямом взаимодействии глутаминовой кислоты с бензиловым спиртом в присутствии концентрированной соляной кислоты (методика 59).

Типичная методика 58 [662]. α-Бензил-L-глутамат. 10 *г* хлоргидрата дибензил-L-глутамата (методика 52 или 56) растворяют в 100 *мл* ледяной уксусной кислоты, к раствору добавляют 10 *мл* (0,12 моля) постоянно кипящей иодистоводородной кислоты (удельный вес 1,7) и смесь оставляют на 5,5 *час* при 50°. Реакционную массу концентрируют в вакууме, к оставшемуся маслу добавляют 50 *мл* бензола и затем растворитель отгоняют в вакууме; эту операцию повторяют еще дважды. Коричневый сиропообразный остаток растворяют при —10° в 60 *мл* 95%-ного этанола, содержащего 7 *мл* (0,029 моля) три-*н*-бутиламина, и к раствору добавляют еще 3—4 *мл* три-*н*-бутиламина до pH около 7; при этом начинается кристаллизация продукта реакции. Реакционную массу оставляют в холодильнике на ночь, осадок отфильтровывают и тщательно промывают абсолютным этанолом и эфиром; получают 5,7 *г* кристаллического вещества. Кристаллы растворяют при комнатной температуре в 11 *мл* воды, содержащей 0,034 моля HCl, раствор обесцвечивают путем нагревания с активированным углем и добавляют к нему равный объем абсолютного этанола. После нейтрализации раствора три-*н*-бутиламином выпадает кристаллический осадок; смесь выдерживают при 0° в течение нескольких часов и затем фильтруют. Выход 4,3 *г* (67%), т. пл. 147—148°, $[\alpha]_D^{25}$ +12,2° (2,9%, в 0,1 н. HCl).

Типичная методика 59. γ-Бензил-L-глутамат. Смесь 147 *г* L-глутаминовой кислоты, 250 *мл* концентрированной соляной кислоты и 1 *л* бензилового спирта нагревают при перемешивании в круглодонной колбе на кипящей водяной бане до полного растворения осадка (обычно на это требуется 40—60 *мин*). Еще через 10 *мин* реакционную смесь охлаждают в бане со льдом, добавляют к ней 8 *л* эфира, вновь выдерживают 30 *мин* при 0° и фильтруют. Осадок

растворяют в 1200 *мл* холодной воды, pH раствора доводят до 6,0—6,5 путем добавления гидроокиси лития, смесь охлаждают 2 *час* в бане со льдом и вновь фильтруют. Осадок промывают этанолом до отрицательной реакции на хлорион (проба с нитратом серебра) и затем эфиром. После перекристаллизации из примерно 800 *мл* кипящей воды получают 30—40% чистого γ-бензил-L-глутамата.

Методы конденсации ациламинокислот с аминокислотами, пептидами или их эфирами

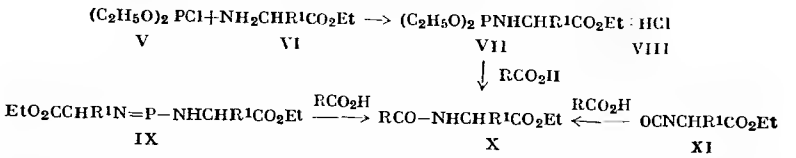
24. Характеристика методов образования пептидной связи. Можно считать, что в общем случае конденсация ациламинокислоты с аминокислотой (или ее эфиром) с образованием пептидной связи между ними включает две следующие стадии: а) соответствующее активирование карбоксильной группы первого компонента реакции или аминогруппы второго и б) конденсацию такого активированного компонента реакции с другим компонентом. Приблизительно до 1950 г. этот метод ограничивался почти исключительно превращением карбоксильной группы ациламинокислоты (I) в соответствующий азид (II, X = N_3) или хлорангидрид (II, X = Cl). Каждое из этих производных в свою очередь конденсировалось с аминокислотой в водно-щелочной среде или с эфиром аминокислоты в инертном органическом растворителе (хлороформе, эфире или этилацетате) с образованием соответствующего производного пептида (III). Эти методы, развитие которых было начато в классических работах Фишера и Курциуса (раздел 6), могут быть изображены в общем виде следующей схемой:

$$\underset{\text{I}}{RCO{-}NHCHR^1CO_2H} \longrightarrow \underset{\text{II}}{RCO{-}NHCHR^1COX} \xrightarrow{NH_2R^2} \underset{\text{III}}{RCO{-}NHCHR^1CO{-}NHR^2} + \underset{\text{IV}}{HX}.$$

С начала пятидесятых годов в синтетическую пептидную химию было введено большое количество новых «карбоксилактивирующих» групп, которые наряду с широко применимой азидной группой привели к тому, что менее удачный хлорангидридный метод практически вышел из употребления. По-видимому, среди такого рода производных наиболее широко изучены межмолекулярные смешанные ангидриды ациламинокислот с алифатическими и ароматическими органическими кислотами (II, X = $-O_2CR$), алифатическими алкоксикислотами (II, X = $-O_2COR$), сложными эфирами многоосновных неорганических кислот (II, X = $-OP(OR)_2$, $-OAs(OR)_2$ или $-OPO(OR)_2$) и многоосновными неорганическими кислотами или эфирами, которые после образования ангидрида сохраняют способный к ионизации атом водорода (II, X = $-OPO(OR)OH$ или $-OSO_3^-$). Следует отметить, что в ангидридах этого типа оксикислота играет роль классической кислоты HX, т. е. соляной или азотистоводородной кислоты в хлорангидридах и азидах соответственно. В какой-то мере на аналогичном принципе основаны методы, в которых используются сравнительно недавно введенные сложные эфиры ациламинокислот (II, X = $NC{-}CH_2O{-}$, $C_6H_5O{-}$, $C_6H_5S{-}$, *п*-$NO_2C_6H_4S{-}$ или $NO_2C_6H_4O{-}$), высокая реакционная способность которых, по-видимому, связана с ярко выраженным электроотрицательным характером сложноэфирной группировки. Методы образования пептидной связи с участием указанных реагентов являются, в сущности, реакциями аминолиза, в которых при взаимодействии данного производного с амином выделяется соответствующий спирт (IV).

Способность эфиров аминокислот (или других аминов) реагировать с хлорангидридами различных замещенных фосфористых кислот с образованием соответствующих фосфитамидов открыла возможность другого, отлич-

ного от описанного выше, пути получения пептидов из ациламинокислот и аминоэфиров. Амиды указанного типа (VII), предварительно получаемые действием диэтилхлорфосфита (V) или тетраэтилпирофосфита на эфир аминокислоты (VI), могут реагировать со свободной карбоксильной группой ациламинокислоты с образованием соответствующего пептида (X). Промежуточные амиды аналогичного типа, обладающие близкой реакционной способностью, были получены при действии аминов на *о*-фениленхлорфосфит, диэтилхлорарсенит, фенил- или этилдихлорфосфит и родственные соединения. Другие «активированные амины», столь же часто используемые в синтезе пептидов, включают фосфоразо- (IX) и α-цианатопроизводные эфиров аминокислот (XI), образующиеся при действии на эфир аминокислоты треххлористого фосфора или фосгена соответственно.



Кроме того, особо следует отметить методы, которые позволяют проводить прямую конденсацию аминокомпонента с карбоксильным компонентом в одну стадию. Такой метод был впервые реализован путем прибавления тетраэтилпирофосфита к раствору ациламинокислоты и эфира аминокислоты в диэтилфосфите. Эта реакция протекает, по-видимому, путем образования смешанного ангидрида со свободной карбоксильной группой ациламинокислоты, т. е. $RCO - NHCHR^1CO{-}O{-}OP(OEt)_2$, или через амид, образовавшийся из свободной аминогруппы второго компонента, т. е. $(EtO)_2PNHCHR^2 \cdot CO_2Et$, как было описано ранее. Аналогичные реакции могут быть проведены в водном тетрагидрофуране в присутствии дициклогексилкарбодиимида или других замещенных карбодиимидов вместо тетраэтилпирофосфита. Эти методы образования пептидной связи, как и упоминавшиеся ранее, более подробно рассматриваются в последующих разделах.

Несмотря на большое количество методов, которые применяются для соединения двух остатков аминокислот пептидной связью, выбор метода конденсации ни в коем случае не следует считать второстепенной проблемой; напротив, при этом следует принимать во внимание целый ряд факторов. Среди этих факторов в первую очередь необходимо учитывать: а) природу защитной группировки вводимой в реакцию ациламинокислоты, б) природу боковых цепей остатков аминокислот, участвующих в конденсации, в) возможность рацемизации при использовании оптически активных аминокислот, г) характер побочных продуктов реакции, которые могут образоваться при данном методе конденсации, и д) конечный выход соответствующего продукта реакции при условии высокой степени его чистоты. Так, например, использование азидного метода при синтезе с фталиламинокислотами связано с рядом осложнений, поскольку при получении промежуточного гидразида может происходить отщепление фталильной группировки. С другой стороны, стерические препятствия, обусловленные наличием объемистой тритильной группы, не позволяют проводить конденсацию тритиламинокислот (за исключением сравнительно менее экранированных производных глицина и аланина) с остатками других аминокислот методом смешанных ангидридов, в то время как при использовании в качестве конденсирующего агента дициклогексилкарбодиимида такая конденсация оказывается возможной. То, что при выборе метода конденсации следует также учитывать природу боковых цепей аминокислот,

иллюстрируется чрезвычайно высокой реакционной способностью гидроксильных групп серина, треонина и оксипролина по отношению к хлорангидридам и смешанным ангидридам, в то время как подобных проблем не возникает в методах конденсации с использованием азидов или карбодиимидов. Особые предосторожности следует соблюдать при наличии других функциональных групп, таких, как ω-карбоксильные группы глутаминовой и аспарагиновой кислот, атомы серы цистина и цистеина, имидазольное ядро гистидина, гуанидиновая группа аргинина и ε-аминогруппа лизина. Эти проблемы, а также другие вопросы, касающиеся относительных выходов и возможных продуктов реакции, образующихся при различных методах конденсации, более подробно рассматриваются ниже.

25. **Вопросы оптической чистоты.** Перед тем как начать более подробное обсуждение отдельных методов образования пептидной связи, представляется целесообразным рассмотреть стереохимическую природу продуктов реакции, которые образуются при конденсации двух или более оптически активных аминокислот. Поскольку основной задачей является получение конечных продуктов реакции, однородных как в оптическом, так и в химическом отношении, особое внимание при этом следует обращать на оптическую чистоту аминокислот, используемых в качестве исходных веществ. Вероятность того, что пептид, содержащий n аминокислотных остатков, будет состоять целиком из L-аминокислот, если исходное вещество представляет собой смесь L- и D-аминокислот в соотношении p, может быть выражена формулой $(1-p)^n$. В табл. 82 приведены результаты расчетов, основанных на этом

Таблица 82

Вероятность образования пептида, состоящего из аминокислот одинаковой оптической конфигурации, при использовании исходных веществ различной степени оптической чистоты[а, б] [257]

n	p — соотношение оптических энантиомеров в исходном веществе			
	0,1	0,01	0,001	0,0001
3	0,73	0,97	0,997	0,9998
10	0,35	0,90	0,99	0,999
100	0[в]	0,37	0,91	0,99
1000	0	0[г]	0,37	0,91

[а] Метод количественной оценки оптической однородности синтетических пептидов был предложен Эдсаллом и далее разработан им совместно с Корнфилдом (Национальный институт здравоохранения, США).

[б] Расчеты основаны на формуле: вероятность$=(1-p)^n$, где n—число остатков аминокислот в пептиде и p—соотношение оптических энантиомеров в аминокислоте, использовавшейся в пептидном синтезе.

[в] $0{,}3\times10^{-4}$.

[г] $0{,}4\times10^{-4}$.

уравнении, для пептидов из n остатков, полученных из аминокислот различной степени оптической чистоты. Эти расчеты сделаны исходя из предполо-

жения, что, хотя пептид может быть построен из остатков различных аминокислот, относительное содержание энантиоморфной формы в каждой из аминокислот является одинаковым. Отсюда становится очевидным, что использование в пептидном синтезе аминокислот, оптическая чистота которых менее 99%, является весьма нежелательным и лишь в случае оптической чистоты аминокислот около 99,9% можно быть полностью уверенным в их пригодности для синтеза высших пептидов. То, что достижение такой степени оптической чистоты аминокислот является реальной задачей, показано экспериментально в лаборатории автора при разделении аминокислот с помощью оптически специфичных гидролитических энзимов (гл. 3): действительно, при получении этими методами L-серина и L-аланина установлено, что оптическая чистота этих изомеров составляет более чем 99,99%. Приведенные в табл. 82 расчеты со всей ясностью показывают необходимость определения оптической чистоты аминокислот, используемых в пептидном синтезе. Методы такого контроля с применением оптически специфичных L- и D-аминооксидаз описаны в гл. 6. Вероятно, можно путем соответствующего увеличения и видоизменения сосудов Варбурга применить этот метод к большим количествам аминокислот и определять примеси при их содержании 0,01% и меньше.

В приведенных выше расчетах не принималось во внимание влияние экспериментальных условий синтеза на оптическую однородность пептидов. Сюда относятся рацемизация при синтезе пептидов, различная реакционная способность диастереомерных соединений и возможность разделения диастереомерных форм в процессе фракционной кристаллизации. Хотя можно предположить, что два последних фактора в некоторых случаях могут благоприятствовать образованию продуктов высокой степени оптической чистоты, вполне очевидно, что те же самые факторы могут привести к весьма оптически неоднородным продуктам реакции вследствие накопления нежелательных изомеров в процессе синтеза. Поскольку, однако, степень влияния каждого из этих факторов в случае большинства методов синтеза пептидов изучена недостаточно, можно с определенной долей вероятности считать, что при отсутствии других данных приведенные в табл. 82 вычисленные значения приблизительно соответствуют реальным значениям.

Несмотря на ограниченное число данных о степени оптической неоднородности синтезируемых пептидов, при синтезе следует соблюдать ряд предосторожностей, которые могли бы свести до минимума опасность получения оптически нечистых веществ. Ранее уже говорилось о необходимости использования в качестве исходных веществ аминокислот высокой степени оптической чистоты. Естественно, те же самые требования должны предъявляться к ациламинокислотам и эфирам аминокислот, оптическая чистота которых может быть легко установлена путем их сведения к соответствующим аминокислотам с последующим определением оптической чистоты с помощью L- и D-аминооксидаз, как это было описано выше. К сожалению, этот метод, дающий точные и надежные результаты, до настоящего времени весьма редко использовался в синтетической пептидной химии. Напротив, степень рацемизации аминокислоты, полученной из соответствующего ее производного, как правило, определялась по величине оптического вращения. Поскольку пределы ошибок таких поляриметрических измерений обычно равны ±2—3%, становится ясным, что этот метод не может быть использован при синтезе высших пептидов, где требуется оптическая чистота аминокислот 99,9% или больше.

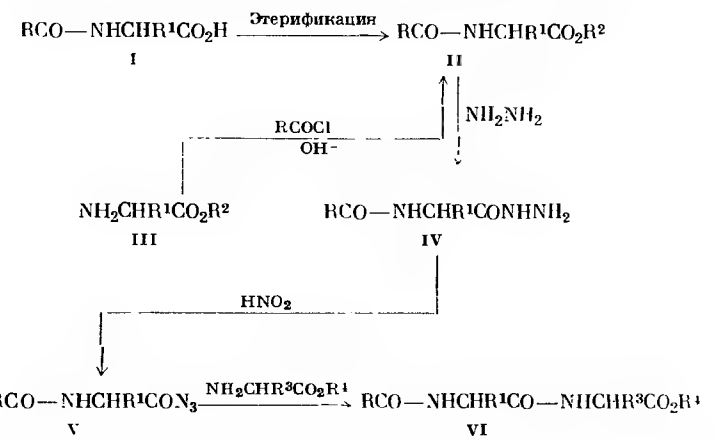
Определение оптической чистоты пептидов, образующихся при конденсации соответствующим образом защищенных аминокислот, представляет собой значительно более сложную задачу. То, что при некоторых условиях пептидного синтеза может иметь место значительная рацемизация, однозначно показано путем сравнения величин оптического вращения пептида, полученного различными методами. Хотя при соответствующем подборе экспериментальных условий можно, по всей вероятности, свести рацемизацию к минимуму, тем не менее отсутствие до настоящего времени удовлетворительного общего метода определения оптической чистоты пептидов и их производных позволяет усомниться в степени их оптической однородности. В этой связи следует отметить, что кислотный гидролиз пептидов до свободных аминокислот с последующим определением степени их оптической чистоты не может, по всей вероятности, дать надежных результатов, поскольку некоторые аминокислоты при такой обработке могут подвергаться рацемизации или разложению. В настоящее время в лаборатории автора разработан имеющий ограниченное применение метод определения оптической чистоты пептидов (раздел 49), который основан на их гидролизе в мягких условиях под действием аминопептидазы почек до смеси соответствующих аминокислот и последующем использовании L- и D-аминооксидаз. Очевидно, что этот метод может применяться лишь в случае тех пептидов, которые а) разрушаются аминопептидазой и б) в состав которых входят аминокислоты, способные после гидролиза подвергаться действию L- или D-аминооксидаз.

При отсутствии общего и надежного метода определения оптической чистоты пептидов и их производных становится необходимым использовать такие приемы синтеза, которые заведомо приводят к веществам с наименьшим содержанием диастереомеров. Хотя данные о таких методах в настоящее время чрезвычайно ограничены, тем не менее известно, что пептидные производные, содержащие некоторые N-защитные группы или полученные с использованием определенных методов конденсации, в большинстве случаев практически не обнаруживают признаков рацемизации. Опыт показывает, например, что карбобензоксипроизводные оптически активных аминокислот, как правило, реагируют с другой аминокислотой при использовании обычных методов конденсации без заметной рацемизации, в то время как во многих случаях другие N-ацильные производные тех же самых аминокислот, например N-ацетильные или N-бензоильные, могут претерпевать значительную потерю оптической активности [681]. Относительная устойчивость карбобензоксипроизводных аминокислот к рацемизации связана, по-видимому, с пониженной склонностью этих соединений к образованию азлактонов (раздел 8). Степень рацемизации является сравнительно небольшой также при использовании некоторых методов конденсации, например азидного метода, который независимо от природы применяемой N-защитной группы приводит к оптически чистым продуктам реакции; напротив, при аналогичных условиях другие методы, например метод смешанных ангидридов или хлорангидридный метод, вызывают значительную потерю оптической активности [681]. Показано также, что на степень рацемизации большое влияние оказывает растворитель, используемый при синтезе пептида [682]. Все эти вопросы более подробно рассматриваются в соответствующих разделах.

Величина оптического вращения аналитически чистых пептидов или их производных, имеющих один асимметрический центр, обратно пропорциональна количеству содержащейся в них энантиоморфной формы, т. е. чем выше величина оптического вращения, тем выше степень оптической чистоты. Таким образом, поляриметрические измерения представляют собой метод, с помощью которого может быть приближенно определена относительная степень оптической чистоты данного соединения (имеющего один асимметрический центр), полученного с помощью различных методов. Напротив, мож-

но ожидать, что величина оптического вращения пептидов, имеющих два или более асимметрических центра, не дает практически никаких сведений о степени содержания в них различных диастереомеров. Ярким примером этого могут служить стереоизомеры аланилаланина, D-D- и L-D-диастереомерные формы которого обладают удельным вращением в воде +21,3 и +72,2° соответственно. Следовательно, увеличение содержания L-аланил-D-аланина в D-аланил-D-аланине приведет к увеличению величины наблюдаемого вращения; 20% примеси L-D-изомера, например, приведет к удельному вращению +31,4°, т. е. к величине приблизительно на 50% более высокой, чем та, которой обладает чистая D-D-форма. Таким образом, из сравнения относительных величин вращения данного соединения, имеющего более одного центра асимметрии, которое было получено двумя или более различными методами, нельзя получить каких-либо надежных данных о степени рацемизации при данном методе синтеза.

26. **Азидный метод.** *Принцип.* Эфир аминокислоты (II), полученный этерификацией ациламинокислоты (I) или ацилированием эфира аминокислоты (III) хлорангидридом, превращается в соответствующий гидразид (IV) при взаимодействии с гидразином в метанольном или этанольном растворе. Обработка гидразида (IV) азотистой кислотой приводит к образованию азида ациламинокислоты (V), который в свою очередь легко вступает в реакцию с аминокислотой или пептидом (в виде их солей со щелочными металлами в водной среде или в виде метиловых, этиловых или бензиловых эфиров в инертном органическом растворителе), приводя к соответствующему ацилдипептиду (VI). Удлинение цепи последнего может быть осуществлено аналогичным образом путем его первоначального превращения в гидразид, как описано выше, с последующим повторением всего синтеза.



Общие соображения. Открытие азидного метода Курциусом [115] в 1902 г. ввело в синтетическую пептидную химию метод, которому в конечном счете суждено было стать одним из наиболее универсальных и широко применимых способов образования пептидной связи. Хотя этот метод широко использовался Курциусом для получения ряда бензоилированных пептидов (раздел 6), его дальнейшему применению для получения свободных пептидов в течение приблизительно двух десятилетий препятствовало отсутствие селективно удаляемых N-защитных групп. Однако с введением тозильной

группы в 1926 г., и особенно карбобензоксигруппы в 1932 г., азидный метод занял ведущее положение и наряду с хлорангидридным методом широко использовался в синтезах пептидов с применением удаляемых N-защитных групп в период с 1932 по 1950 г. Несмотря на создание впоследствии менее трудоемких методов синтеза пептидов, существенные преимущества, которыми обладает азидный метод, обусловили его широкое использование вплоть до настоящего времени.

Экспериментальные условия. Получение азидов ациламинокислот может быть осуществлено путем взаимодействия хлорангидрида ациламинокислоты с азидом натрия или действием азотистой кислоты на гидразид ациламинокислоты. Поскольку в первом из указанных методов используется промежуточное соединение, а именно хлорангидрид, которое само по себе может применяться для синтеза пептидов вместо азида, такой способ получения, естественно, является нецелесообразным. Поэтому на практике азиды ациламинокислот обычно получают обработкой кислого водного раствора исходного гидразида нитритом натрия. Синтез важнейших промежуточных веществ — гидразидов ациламинокислот (IV) обычно проводится путем обработки концентрированного этанольного или метанольного раствора исходного эфира ациламинокислоты (II) многократным избытком гидразина. Гидразид обычно выпадает из раствора в виде белого кристаллического вещества в течение 12—48 *час* при комнатной температуре или, если он растворим, выделяется путем выпаривания раствора в вакууме досуха. Кристаллизация происходит очень легко и обычно проводится из таких растворителей, как вода, этилацетат, этанол, метанол или смесь этанола с эфиром. Метиловые или этиловые эфиры ациламинокислот, являющиеся исходными веществами для получения гидразидов, могут быть приготовлены обработкой ациламинокислоты диазометаном или избытком соответствующего спирта в присутствии минеральной кислоты, а также ацилированием эфира аминокислоты в присутствии подходящего основания. В табл. 83 приведены этиловые и метиловые эфиры некоторых ациламинокислот, которые были получены указанными методами. Хотя в большинстве случаев кристаллические эфиры ациламинокислот выделяют и идентифицируют перед стадией гидразинолиза, иногда более целесообразно для повышения выхода и экономии времени получать нужный гидразид без выделения промежуточного эфира (методика 60). Некоторые из гидразидов ациламинокислот, которые были получены до настоящего времени, перечислены в табл. 84.

Типичная методика 60 [666]. Гидразид карбобензокси-L-аланина. В трехгорлую колбу емкостью 500 *мл*, снабженную мешалкой и охлаждаемую в бане со смесью льда и соли, помещают 15,4 *г* (0,1 моля) хлоргидрата этилового эфира L-аланина (методика 48), 75 *мл* воды и 180 *мл* хлороформа. При энергичном перемешивании добавляют тремя порциями в течение 30 *мин* 5,2 *г* (0,13 моля) MgO и одновременно прибавляют по каплям 22,2 *г* (0,13 моля) карбобензоксихлорида (методика 27). Перемешивание продолжают еще в течение 30 *мин*, добавляют 5 *мл* пиридина и через 5 *мин* смесь подкисляют 5 н. HCl (по конго). Хлороформный слой отделяют, промывают сначала 0,5 н. HCl, затем последовательно водой, 5%-ным раствором бикарбоната натрия и снова водой, высушивают безводным сульфатом натрия и упаривают в вакууме. Полученное масло трижды обрабатывают 50 *мл* абсолютного этанола, каждый раз отгоняя растворитель в вакууме. Остаток (этиловый эфир карбобензокси-L-аланина) растворяют затем в 100 *мл* безводного этанола, добавляют 7 *г* гидразингидрата и смесь оставляют на ночь при комнат-

Таблица 83

Бензиловые, этиловые и метиловые эфиры ациламинокислот

Соединение	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [a]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Бензиловый эфир карбобензокси-DL-аланина	59	—		—	664
Бензиловый эфир карбобензокси-β-аланина	22	—		—	664
Метиловый эфир карбобензокси-L-нитроаргинина	125	—	—	—	492
Бензиловый эфир карбобензокси-L-аспарагина	132	—	—	—	604
Метиловый эфир карбобензокси-L-аспарагина	150	−2,0	20	—, уксусная кислота	128
α-Бензиловый эфир карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты	84—85	—	—	—	602
β-Бензиловый эфир карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты	108	+12,1	25	10%, уксусная кислота	364
Дибензиловый эфир карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты	66,5	−2,5	25	10%, уксусная кислота	364
α-Этиловый эфир карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты	80—82	—	—	—	609
β-Метиловый эфир карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты	98	−17,4	25	2,5%, пиридин	508
Бензиловый эфир карбобензокси-S-бензил-L-цистеина	66	−42,1	23	9,5%, уксусная кислота	664
Этиловый эфир карбобензокси-S-бензил-L-цистеина	52—53	—	—	—	390, *646*
Метиловый эфир карбобензокси-S-бензил-L-цистеина	66—67	—	—	—	606
бис-Метиловый эфир α-карбобензокси-α′-тритил-L-цистина	66—67	+103	25	1,0%, хлороформ	876
α-Бензиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты	78—81	—	—	—	610
γ-Бензиловый эфир карбобензокси-D-глутаминовой кислоты	—	+24	25	5,8%, 1 н. $KHCO_3$	367
γ-Бензиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты	76—78	−23	22	6,3%, 1 н. $KHCO_3$	367
Дибензиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты	95—96	−10,4	24	1,7%, уксусная кислота	367, *662*, 667
α-Этиловый эфир карбобензокси-DL-глутаминовой кислоты	99—101	—	—	—	610
α-Этиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты	46—48	−21,4	16	7,7%, этанол	475, *610*, 682в
γ-Этиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты	87	—	—	—	*367*, 606, 610
γ-Метиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты	72—73	−15,3	21	7,5%, 1,4 н. $KHCO_3$	367
Бензиловый эфир карбобензокси-L-глутамина	123	—	—	—	602
Метиловый эфир карбобензокси-L-глутамина	140—141	−19,4	23	1%, метанол	683
Бензиловый эфир карбобензоксиглицина	72	—	—	—	664
Этиловый эфир карбобензоксиглицина	35,5—36,5	—	—	—	637
Метиловый эфир N,N′-дикарбобензокси-L-гистидина	45—46	—	—	—	483
Хлоргидрат метилового эфира 1,N-дикарбобензокси-L-гистидина	117—118 (с разл.)	—	—	—	483
Метиловый эфир N-карбобензокси-O-тозил-L-оксипролина	76—78	−32,4	20	1%, метанол	487
Метиловый эфир N-карбобензокси-O-тозил-L-*алло*-оксипролина	138—139	−25,4	20	1%, хлороформ	487
Этиловый эфир карбобензокси-DL-лейцина	18,5—19	—	—	—	684
Бензиловый эфир карбобензокси-DL-фенилаланина	84	—	—	—	664
Бензиловый эфир карбобензокси-DL-серина	74—75	—	—	—	497—499
Бензиловый эфир карбобензокси-D-серина	83,5—84,5	−5,5	—	4%, хлороформ	499
Бензиловый эфир карбобензокси-L-серина	84—85	+5,7	—	4%, хлороформ	499
Метиловый эфир карбобензокси-L-треонина	89—91	—	—	—	627
Этиловый эфир карбобензокси-L-тирозина	78	−4,7	25	1,9%, этанол	128
Метиловый эфир N-карбобензокси-O-ацетил-L-тирозина	73—74,5	—	—	—	637

29 Заказ № 576

Продолжение табл. 83

Соединение	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [a]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Этиловый эфир N-карбобензокси-O-бензоил-L-тирозина	92	—	—	—	646
Бензиловый эфир карбобензокси-DL-валина	45	—	—	—	664
Этиловый эфир карбобензокси-DL-валина	32—33	—	—	—	684
Метиловый эфир карбобензокси-L-валина	56—57	−16,0	17	3,1%, этанол	*373*, 625
Дибензиловый эфир *n*-нитрокарбобензокси-L-глутаминовой кислоты	81	−11,2	22	0,9%, 96% этанол	677
Этиловый эфир *n*-нитрокарбобензокси-3,5-дииод-L-тирозина	151—152	−40,5	22	1%, пиридин	362
Этиловый эфир метилтиокарбонилглицина	55	—	—	—	580
Метиловый эфир фенилтиокарбонил-DL-аланина	55—56	—	—	—	579
Диметиловый эфир *бис*-фенилтиокарбонил-L-цистина	108	—	—	—	578
Этиловый эфир фенилтиокарбонилглицина	104—106	—		—	578, *579*
Этиловый эфир-*o*-нитрофеноксиацетилглицина	92—93	—	—	—	494
Этиловый эфир-*o*-нитрофеноксиацетил-L-фенилаланина	86,5—90	−12,0	25	1,2%, 95% этанол	494
Метиловый эфир фталил-DL-аспарагина	170	—	—	—	685
α-Метиловый эфир фталил-DL-аспарагиновой кислоты	182	—	—	—	685
γ-Метиловый эфир фталил-DL-аспарагиновой кислоты	147—148	—	—	—	685
Диэтиловый эфир фталил-L-аспарагиновой кислоты	Масло	−40	17	0,5%, этанол	528
γ-Бензиловый эфир фталил-DL-глутаминовой кислоты	85—86	—	—	—	607
γ-Бензиловый эфир фталил-L-глутаминовой кислоты	66—67	−30,4	20	3%, хлороформ	533
Диэтиловый эфир фталил-L-глутаминовой кислоты	Масло	−33,5	19	—, этанол	527
α-Метиловый эфир фталил-DL-глутаминовой кислоты	149—151	—	—	—	523
α-Метиловый эфир фталил-L-глутаминовой кислоты	138	−55,9	26	3,2%, этилацетат	523, *533*
γ-Метиловый эфир фталил-DL-глутаминовой кислоты	114	—	—	—	607
γ-Метиловый эфир фталил-L-глутаминовой кислоты	136—137б	−40,5	20	2,7%, хлороформ	523, *533*
Этиловый эфир фталил-L-гистидина	195	—	—	—	538
Метиловый эфир фталил-L-гистидина	187	—	—	—	*537*, *538*
Хлоргидрат метилового эфира фталил-L-гистидина	238—240	—	—	—	537, *538*
Метиловый эфир α-фталил-δ-карбобензокси-DL-орнитина	176,5—177,5	—	—	—	429
Этиловый эфир тозил-DL-аланина	68	—	—	—	127
Метиловый эфир тозил-S-бензил-L-цистеина	73—73,5	+21,4	18	5%, метанол	432а
Диэтиловый эфир тозил-L-глутаминовой кислоты	76—76,5	—	—	—	686
γ-Метиловый эфир тозил-L-глутаминовой кислоты	113—114	—	—	—	436
Этиловый эфир тозил-DL-лейцина	83,5	—	—	—	127
Хлоргидрат бензилового эфира α-тозил-L-лизина	170	—	—	—	439а
Хлоргидрат этилового эфира α-тозил-L-лизина	180,5	—	—	—	439а
Хлоргидрат метилового эфира α-тозил-L-лизина	146—147	—	—	—	439б
Метиловый эфир α-тозил-ε-карбобензокси-L-лизина	80—81	—	—	—	439б
Хлоргидрат метилового эфира α-тозил-DL-орнитина	184,5—185,5	—	—	—	439б
Хлоргидрат метилового эфира α-тозил-L-орнитина	152—153	—	—	—	439б
Метиловый эфир α-тозил-δ-карбобензокси-DL-орнитина	93,5—94,5	—	—	—	439б

Продолжение табл. 83

Соединение	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [а]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Метиловый эфир α-тозил-δ-карбобензокси-L-орнитина	97—98	—	—	—	439б
Метиловый эфир тозил-DL-треонина	80—89	—	—	—	687
Метиловый эфир тозил-D-треонина	100—101	+8,0	16	2%, метанол	687
Метиловый эфир тозил-L-треонина	100—101	−8,0	16	2%, метанол	687
Этиловый эфир тозил-L-валина	59	+4,0	20	—, этанол	688
Этиловый эфир трифторацетил-L-аспарагина	122	−37,4	23	0,9%, метанол	576
Диэтиловый эфир трифторацетил-L-аспарагиновой кислоты	45	−11,6	23	1,1%, тетрагидрофуран	576
α-Этиловый эфир трифторацетил-L-аспарагиновой кислоты	96—97	−10,2	12	0,5%, тетрагидрофуран	576
α-Этиловый эфир трифторацетил-L-глутаминовой кислоты	76—77	−42,9	20	2%, этанол	477
Этиловый эфир трифторацетилглицина	51,5	—	—	—	568
Метиловый эфир трифторацетил-DL-тироксина	203—206	—	—	—	689
Этиловый эфир трифторацетил-DL-тирозина	175—176	—	—	—	569
Этиловый эфир трифторацетил-L-тирозина	175—176	—	—	—	689
Этиловый эфир трифторацетил-3,5-дииод-L-тирозина	172—173	—	—	—	689
Метиловый эфир трифторацетил-3,5-дииод-L-тирозина	166—169	—	—	—	689
Этиловый эфир тритил-DL-аланина	100	—	—	—	545
Метиловый эфир тритил-DL-аланина	101	—	—	—	548
Метиловый эфир тритил-L-аланина	Масло	—	—	—	548
Метиловый эфир α-тритил-L-аргинина	120—125	+56,0	21	5%, метанол	471а
Дибензиловый эфир тритил-L-аспарагиновой кислоты	104—105	+7,5	20	2%, хлороформ	673
Диметиловый эфир *бис*-тритил-L-цистина	146	—	—	—	548
Метиловый эфир N,S-дитритил-L-цистеина	90—92	—	—	—	548
Дибензиловый эфир тритил-L-глутаминовой кислоты	87—89	+35,5	—	2%, хлороформ	675
γ-Метиловый-α-бензиловый эфир тритил-L-глутаминовой кислоты	91—92	+36	—	2%, хлороформ	675
α-Метиловый эфир тритил-L-глутаминовой кислоты	140—141	+45,0	—	2%, метанол	675
γ-Метиловый эфир тритил-L-глутаминовой кислоты	116—117	+48,0	—	2%, метанол	675
Этиловый эфир тритилглицина	114	—	—	—	*545*, *548*
Хлоргидрат этилового эфира тритилглицина	95—96	—	—	—	548
Метиловый эфир тритилглицина	106—107	—	—	—	548
Хлоргидрат метилового эфира α-тритил-L-гистидина	147	+27,7	—	5%, метанол	548а
Метиловый эфир α,ε-дитритил-DL-лизина	149—150	—	—	—	550
Метиловый эфир тритил-L-фенилаланина	95	—	—	—	548

[а] В тех случаях, когда приведено несколько ссылок, константы соединения взяты из литературного источника, ссылка на который выделена курсивом.

[б] Для этого соединения приводилась также температура плавления 118—120° ($[\alpha]_D^{21}$ −45,1°, в метаноле) [523].

Таблица 84

Гидразиды ациламинокислот

Гидразид (указана ациламинокислота)	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература [а]
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Карбоаллилокси-L-метионин	108—110	−19,7	19	1%, метанол	490
Карбобензокси-D-аланин	138,5	+28,7	25	2%, 0,5 н. HCl	666
Карбобензокси-L-аланин	138,5	−28,6	25	2%, 0,5 н. HCl	631, *666*
Карбобензокси-β-аланин	143	—	—	—	690
Карбобензокси-S-бензил-D-цистеин	135	—	—	—	473
Карбобензокси-S-бензил-L-цистеин	133—135	−14,3	—	1%, этанол	390, *606*, 646
бис-Карбобензокси-L-цистин (*бис*-гидразид)	175—176	—	—	—	876
Карбобензокси-L-глутаминовая кислота (α-гидразид)	168—170	—	—	—	691
Карбобензокси-L-глутаминовая кислота (γ-гидразид)	178—179	−4	—	1 %, H_2O+1 экв. NaOH	*606*, *691*, 692, *693*
Карбобензокси-L-глутамин	174—176	—	—	—	619
Карбобензоксиглицин	116—117	—	—	—	666, *694*
Карбобензокси-L-гистидин	171—173	—	—	—	695
Дикарбобензокси-DL-оксилизин	145	—	—	—	830а
Дикарбобензокси-DL-*алло*-оксилизин	163	—	—	—	830а
Карбобензокси-L-оксипролин	149—149,5	—	—	—	169
Карбобензокси-D-лейцин	121	—	—	—	*469*, 696
Карбобензокси-L-лейцин	121	−20,8	25	4,1%, этанол	466, 179, *625*
Дикарбобензокси-L-лизин	159	—	—	—	*626*, 697
Карбобензокси-DL-метионин	107—108	—	—	—	627
Карбобензокси-D-метионин	110—112	—	—	—	627
Карбобензокси-L-метионин	121—122[б]	−18,5	19	2%, метанол	*490*, 627
Дикарбобензокси-L-орнитин	126—128	—	—	—	421
Карбобензокси-D-фенилаланин	169—170	—	—	—	698
Карбобензокси-L-фенилаланин	168	—	—	—	697, *698*
Карбобензокси-DL-серин	162—163	—	—	—	*498*, 537
Карбобензокси-L-серин	181	—	—	—	498, *501*, 699
Карбобензокси-DL-треонин	171—172	—	—	—	498
Карбобензокси-L-тирозин	220—221	—	—	—	*646*, 700
Карбобензокси-L-валин	178	−22,8	27	2,5%, 1 н. HCl	421, *625*
Карбо-*трет*-бутилокси-L-метионин	74	−12,4	23	2,5%, метанол	471а
Формилглицин	130	—	—	—	585
о-Нитрофеноксиацетилглицин	182—184,5	—	—	—	494
о-Нитрофеноксиацетил-L-фенилаланин	176,5—179,5	—	—	—	494
Фталилглицин (хлоргидрат гидразида)	300 (с разл.)	—	—	—	413
Тозил-DL-аланин	171	—	—	—	127
Тозил-S-бензил-DL-цистеин	162	—	—	—	432а
Тозил-S-бензил-L-цистеин	127,5	−9,3	19	0,6 %, уксусная кислота	432а
Тозил-L-глутаминовая кислота (γ-гидразид)	203—204 (с разл.)	+15,8	21	0,7%, 0,5 н. HCl	436, *701*
Тозилглицин	155,5	—	—	—	127
Тозилглицин (хлоргидрат гидразида)	174—177	—	—	—	413
Тозил-DL-лейцин	146	—	—	—	127
Тозил-DL-серин	155	—	—	—	702
Тозил-L-серин	179—181	—	—	—	444
Тозил-D-треонин	195—197	+19,4	16	0,7%, метанол	687
Тозил-L-треонин	195—197	−19,8	16	1%, метанол	687
Тритилглицин	164—165	—	—	—	548

[а] В тех случаях, когда приведено несколько ссылок, константы соединения взяты из литературного источника, ссылка на который выделена курсивом.

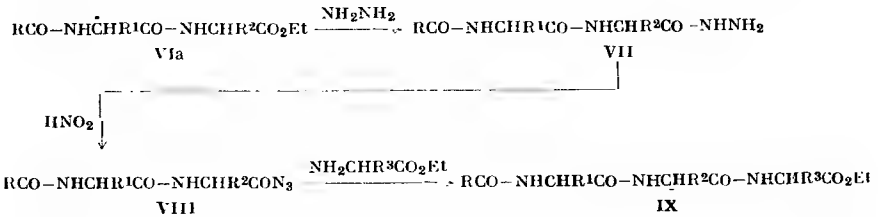
[б] Для этого соединения приводилась также температура плавления 110—112° [627].

ной температуре. Бо́льшая часть гидразида выпадает в виде кристаллов; их отфильтровывают, промывают холодным безводным этанолом и высушивают; вторую порцию вещества выделяют из маточника. Продукт реакции перекристаллизовывают из этилацетата. Выход —79% теории; т. пл. 138,5°; $[\alpha]_D^{25}$—28,6° (2%, в 0,5 н. HCl).

Опыт показал, что водные растворы гидразидов ациламинокислот могут быть наиболее быстро получены при действии смеси соляной и уксусной кислот [626]. Поскольку растворимость данного гидразида, очевидно, в значительной степени определяется соотношением соляной и уксусной кислот в используемой смеси, причем последнее может значительно изменяться в зависимости от применяемого гидразида, то соотношение кислот, необходимое для растворения какого-либо нового гидразида, по существу, находится путем проб и ошибок. Практически поступают следующим образом: к водной суспензии гидразида (IV) добавляют один или более эквивалентов соляной кислоты и затем при встряхивании к смеси добавляют по каплям ледяную уксусную кислоту до полного растворения. Прибавление к такому раствору нитрита натрия на холоду приводит к образованию соответствующего азида (V). Хотя азиды ациламинокислот являются в большинстве случаев кристаллическими веществами, их обычно не выделяют в свободном виде ввиду их значительной неустойчивости в сухом состоянии, а вместо этого экстрагируют каким-либо органическим растворителем, например этилацетатом, хлороформом или эфиром. Поскольку азиды имеют склонность к разложению с выделением газообразного азота и при нагревании претерпевают хорошо известную перегруппировку Курциуса, приводящую к изоцианатам, то рекомендуется проводить указанные выше операции на холоду, чтобы свести к минимуму эти побочные процессы. Образование нужного пептидного производного в конце концов достигается путем взаимодействия такого раствора азида с соответствующим эфиром аминокислоты в органической среде или со свободной аминокислотой в водно-щелочной среде. Эти операции описаны ниже на примере получения бензилового эфира карбобензокси-L-аланил-L-аланина (методика 61) и могут быть использованы для получения многих других эфиров ацилпептидов.

Типичная методика 61 [666]. Бензиловый эфир карбобензокси-L-аланил-L-аланина. 11,9 *г* (0,05 моля) гидразида карбобензокси-L-аланина (методика 60) растворяют в смеси 60 *мл* ледяной уксусной кислоты, 24 *мл* 5 н. соляной кислоты и 250 *мл* воды и раствор охлаждают до —5°. К полученному раствору добавляют в один прием при встряхивании холодный концентрированный водный раствор 3,7 *г* (0,053 моля) нитрита натрия; при этом азид выпадает в виде масла, которое растворяют в 300 *мл* холодного эфира. Эфирный слой при охлаждении промывают последовательно ледяной водой, 3%-ным раствором бикарбоната натрия и еще раз водой, высушивают в течение короткого времени сульфатом натрия и быстро добавляют к холодному раствору бензилового эфира L-аланина в сухом эфире. [Такой раствор предварительно получают следующим образом. Суспензию 24,4 *г* (0,07 моля) *п*-толуолсульфоната бензилового эфира L-аланина (методика 57) в 100 *мл* хлороформа, содержащего 9,7 *мл* (0,07 моля) триэтиламина, встряхивают в течение 10 *мин*, добавляют к ней 350 *мл* абсолютного эфира, через 10 *мин* отфильтровывают осадок *п*-толуолсульфоната триэтиламмония, фильтрат упаривают в вакууме досуха и остаток растворяют в сухом эфире.] Смесь оставляют на 20 *час* при комнатной температуре и промывают последовательно 0,5 н. соляной кислотой, водой, 3%-ным раствором бикарбоната натрия и водой; после высушивания раствора сульфатом натрия и упаривания растворителя в вакууме получают кристаллическое вещество, которое перекристаллизовывают из смеси этилацетата с петролейным эфиром. Выход чистого продукта реакции 65—70% (считая на взятый в реакцию гидразид); т. пл. 138°.

Обработка спиртового раствора метилового или этилового эфира ацилдипептида (VIa) или высшего пептида гидразином приводит к образованию соответствующего гидразида (методика 62). Превращение последнего соединения в азид (VIII) при действии азотистой кислоты и последующая конденсация его с соответствующим производным аминокислоты или пептида в условиях опыта по методике 61 приводят к удлинению пептидной цепи (IX); например:



В табл. 85 перечислены некоторые из полученных до настоящего времени гидразидов высших ацилпептидов.

Типичная методика 62 [666]. Гидразид карбобензокси-L-аланил-L-аланина. К раствору 0,05 моля этилового эфира карбобензокси-L-аланил-L-аланина в 80—100 *мл* горячего абсолютного этанола добавляют 0,10—0,13 моля гидразингидрата и раствор кипятят в течение часа. Смесь оставляют на 20 *час* при комнатной температуре; при этом бо́льшая часть гидразида выпадает в виде кристаллов, которые отфильтровывают; еще некоторое количество вещества можно получить путем добавления эфира к маточному раствору. Объединенный осадок перекристаллизовывают из смеси этанола с эфиром; выход 80—90% теории; т. пл. 209°.

Область применения и ограничения. Для практического использования азидного метода в синтезе пептидов весьма существенно, чтобы гидразиды ациламинокислот могли быть легко получены при действии гидразина на эфир ациламинокислоты. Однако, поскольку некоторые ацильные заместители, например фталильная и трифторацетильная группы, легко отщепляются при действии гидразина, очевидно, что использование этого метода для получения промежуточных гидразидов, имеющих указанные заместители, приводило бы к значительному деацилированию. Хотя азиды такого рода ациламинокислот и были получены при обработке хлорангидридов фталиламинокислот азидом натрия [720] или при действии дициклогексиламиназида на хлорангидриды трифторацетиламинокислот [573], однако необходимость получения в качестве промежуточного соединения хлорангидрида делает стадию получения азида в значительной степени излишней. Ввиду этого фталильная и трифторацетильная группы сравнительно редко использовались в синтезах пептидов по азидному методу. Определенные трудности встречаются также при наличии тритильной группы; стерические препятствия, обусловленные этим объемистым заместителем, приводят к тому, что лишь эфир тритилглицина оказывается способным к образованию гидразида [548], в то время как эфиры высших тритиламинокислот проявляют значительную устойчивость к действию гидразина [546]. Таким образом, практически применение

Таблица 85

Гидразиды ацилированных пептидов

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Литература
Cbzo-Ala-Ala-$NHNH_2$	D-D	208	666
Cbzo-Ala-Ala-$NHNH_2$	D-L	193	666
Cbzo-Ala-Ala-$NHNH_2$	L-D	193	666
Cbzo-Ala-Ala-$NHNH_2$	L-L	209	666
Cbzo-Ala-Ala-Ala-$NHNH_2$	L-L-D	205	703
Cbzo-Ala-Ala-Ala-$NHNH_2$	L-D-L	194	703
Cbzo-Ala-Ala-Ala-$NHNH_2$	L-L-L	235	703
Cbzo-Ala-Gly-$NHNH_2$	DL	156—157	704
Cbzo-Ala-Gly-$NHNH_2$	D	147—148	705
Cbzo-Ala-Gly-$NHNH_2$	L	157	*169*, 705, 875в
Cbzo-β-Ala-His-$NHNH_2$	L	188—189	621
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-$NHNH_2$	L-D	190—191	667
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-$NHNH_2$	L-L	165	667
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Ala-$NHNH_2$	L-L-L	208	706
Cbzo-Ala-Ser-$NHNH_2$	L-L	223—224	432a
Cbzo-CySBz-Ala-$NHNH_2$	L-L	181	432a
Cbzo-CySBz-Ala-Ser-$NHNH_2$	L-L-L	208—209	432a
Cbzo-CySBz-CySBz-$NHNH_2$	L-L	167	432a
Cbzo-CySBz-Gly-$NHNH_2$	L	142 [а]	390, *432*a, 472
Cbzo-CySBz-Gly-Gly-$NHNH_2$	L	164	390
Cbzo-CySBz-Gly-Gly-Gly-$NHNH_2$	L	196	390
Cbzo-CySBz-Tyr-$NHNH_2$	L-L	208—209	707
Cbzo-CySBz-Tyr-Ileu-$NHNH_2$	L-L-L	238	472
Cbzo-CySBz-Tyr-Leu-$NHNH_2$	L-L-L	240	629
Cbzo-CySBz-Tyr-Phe-$NHNH_2$	L-L-L	243	629
Cbzo-CySBz-Tyr-Val-$NHNH_2$	L-L-L	241	*629*, 708
Cbzo-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-$NHNH_2$	L-L-L	258	472
Cbzo-Glu(NH_2)-CySBz-$NHNH_2$	L-L	233—234 (с разл.)	432a
Cbzo-Glu(NH_2)-CySBz-CySBz-$NHNH_2$	L-L-L	227	432a
Cbzo-Glu(NH_2)-Glu(NH_2)-CySBz-$NHNH_2$	L-L-L	260	629
Cbzo-Glu-Tyr-$NHNH_2$	L-L	194	709
Cbzo-Gly-Ala-$NHNH_2$	DL	174—176	704
Cbzo-Gly-Ala-$NHNH_2$	L	158—160	*494*, 710
Cbzo-Gly-Ala-Leu-$NHNH_2$	L-L	186	710
Cbzo-Gly-Gly-Gly-$NHNH_2$	—	225 (с разл.)	*413*, 711
Cbzo-Gly-His-$NHNH_2$	L	200—202	537
Cbzo-Gly-His-Gly-$NHNH_2$	L	199—201	537
Cbzo-Gly-Leu-$NHNH_2$	L	134	413, 694

Продолжение табл. 85

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Литература
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-$NHNH_2$	L	167	*358*, 667
Cbzo-Gly-Phe-$NHNH_2$	L	143—145	712
Cbzo-Gly-(O-Bz-Ser)-$NHNH_2$	DL	188—189	828
Cbzo-Gly-Tyr-$NHNH_2$	L	205—206	413
Cbzo-His-Ala-$NHNH_2$	L-L	203—204	695
Cbzo-His-Gly-$NHNH_2$	L	180—181	695
Cbzo-His-Leu-$NHNH_2$	L-L	175—177	695
Cbzo-His-Phe-$NHNH_2$	L-L	201—202	713
Cbzo-Ileu-His-$NHNH_2$	L-L	186—187 [б]	714
Cbzo-Leu-Phe-$NHNH_2$	L-D	166	*423*, 698
Cbzo-Leu-Tyr-$NHNH_2$	L-D	208—209 [п]	679a
Cbzo-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-$NHNH_2$	L-D	176	667
Cbzo-(N^{ε}-Cbzo-Lys)·(N^{ε}-Cbzo-Lys)-$NHNH_2$	L-L	190—191	667, *715*
Cbzo-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Tyr-$NHNH_2$	L-L	220—221	584a
Cbzo-Phe-Gly-Gly-$NHNH_2$	DL	170—171	716
Cbzo-Phe-(N^{im}-Bz-His)-$NHNH_2$	L-L	183—186	484
Cbzo-Pro-Gly-Gly-$NHNH_2$	L	117—118	170
Cbzo-Pro-Leu-$NHNH_2$	L-L	133—135	717
Cbzo-Ser-Ala-$NHNH_2$	L-L	222—223	631
Cbzo-Ser-Gly-$NHNH_2$	DL	187—189	*537*, 704
Cbzo-Ser-Gly-$NHNH_2$	L	188	*631*, 699
Cbzo-Ser-Gly-Ala-$NHNH_2$	D-L	222—223 [г]	717a
Cbzo-Ser-Gly-Ala-$NHNH_2$	L-L	221—222 [д]	717a
Cbzo-Ser-His-$NHNH_2$	D-L	195—196 [е]	718
Cbzo-Ser-His-$NHNH_2$	L-L	178—179 [ж]	718
Cbzo-Ser-Met-$NHNH_2$	L-L	215—216	444
Cbzo-Ser-Tyr-$NHNH_2$	L-L	213—214	*444*, 471a
Cbzo-Ser-Tyr-Ser-$NHNH_2$	L-L-L	210—213	*444*, 471a
Cbzo-Thr-His-$NHNH_2$	L-L	179—180	504a
Cbzo-Tyr-Tyr-$NHNH_2 \cdot H_2O$	L-L	246 (с разл.)	637
Cbzo-Val-His-$NHNH_2$	L-L	194—195	718a
Cbzo-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-$NHNH_2$	L-L	213	*423*, 719
Cbzo-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro-$NHNH_2$	L-L-L-D-L	145—160 [з]	423
Cbzo-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Tyr-$NHNH_2$	L-L-L-D	236—239 [и]	679a
Cbzo-Val-Tyr-$NHNH_2$	L-L	239—241 [к]	508
n-NO_2-Cbzo-CySBz-Pro-$NHNH_2$	L-L	150—151 [л]	511
Tos-CySBz-Tyr-$NHNH_2$	L-L	201	400
Tos-CySBz-Tyr-Gly-$NHNH_2$	L-L	217—218	400

Продолжение табл. 85

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Литература
Tos-CySBz-Tyr-Heu-$NHNH_2$	L-L-L	242—243	400
Tos-CySBz-Tyr-Leu-$NHNH_2$	L-L-L	227	400
Tos-CySBz-Tyr-Phe-$NHNH_2$	L-L-L	242—243 м	482а
Tos-Gly-Tyr-$NHNH_2$	L	204—207	413
Tos-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-$NHNH_2$	L-L-L	224—225 н	482а
Tos-Ser-Gly-$NHNH_2$	DL	215—216	702
Tos-Ser-Tyr-$NHNH_2$	L-L	200—202	444
Tos-Val-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-$NHNH_2$	L-L	226—227	421
Tri-Gly-CyS-$NHNH_2$	L	138—140	548
Tri-Gly-CyS-$NHNH_2$	L	—	—
Tri-Gly-Gly-$NHNH_2$	—	147—148	546

а $[\alpha]_D^{23}$ −38.5 (0.9%, в этаноле) [472]; $[\alpha]_D^{19}$ −14.8° (1%, в этаноле) [432а].

б $[\alpha]_D^{22}$ −51° (1.3%, в 1 н. HCl).

в $[\alpha]_D^{25}$ −11.4° (0.5%, в метаноле).

г $[\alpha]_D^{25}$ −4.8° (1%, в уксусной кислоте).

д $[\alpha]_D^{25}$ −24° (1%, в уксусной кислоте).

е $[\alpha]_D^{27}$ +5.0° (2%, в метаноле).

ж $[\alpha]_D^{27}$ −18.0° (2%, в метаноле).

з $[\alpha]_D^{25}$ −75.1° (0.4%, в метаноле).

и $[\alpha]_D^{25}$ −27.6° (1%, MeOH : 0,1 н. HCl : AcOH (3 : 1 : 1)).

к $[\alpha]_D^{25}$ −13.7° (3.6%, в диметилформамиде).

л $[\alpha]_D^{24}$ −51,6 (1%, в диметилформамиде).

м $[\alpha]_D^{24}$ +6,8° (1%, в диметилформамиде).

н $[\alpha]_D^{24}$ −32,6° (1%, в диметилформамиде).

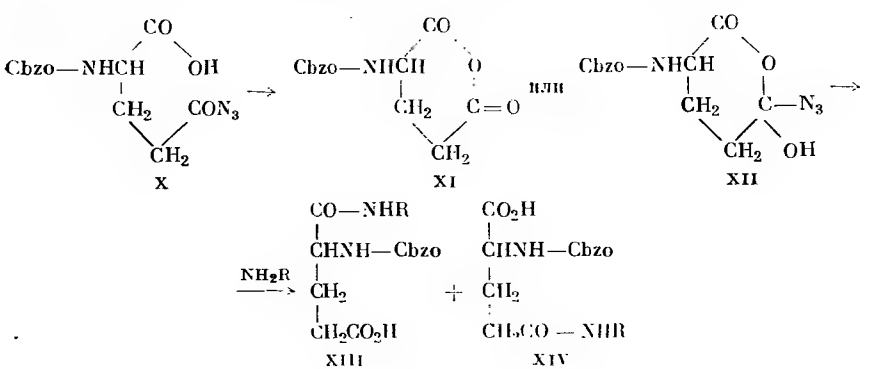
азидного метода для получения ацилдипептидов и эфиров ацилдипептидов ограничено синтезами, в которых используются более подходящие карбобензокси- и тозильные производные.

По сравнению с введенными позднее методами образования пептидной связи азидный метод является не только более трудоемким, но также часто приводит и к более низким выходам продуктов реакции, что на первый взгляд должно было бы привести к определенному ограничению использования азидного метода в синтезе пептидов. Однако этот метод обладает некоторыми преимуществами, которые не только компенсируют его недостатки, но и делают желательным его дальнейшее использование. Так, с одной стороны, азидный метод может применяться для синтеза пептидов, включающих практически все встречающиеся в белках аминокислоты; с другой стороны, его использование в синтезах с участием асимметрических соединений неизменно приводит к образованию производных, в которых полностью сохраняется конфигурация каждого асимметрического центра. Яркой иллюстрацией этому является работа Норта и Янга [681], которые изучали реакцию конденсации ацетил-L-лейцина с этиловым эфиром глицина по класси-

ческому пути — через соответствующие азид и хлорангидрид, а также с помощью метода смешанных ангидридов (с применением изобутилового эфира хлормуравьиной кислоты [721]), фосфоамидного (с применением тетраэтилпирофосфата [722]) и «фосфоразного» [723] методов. Оптически активное соединение было выделено лишь в случае азидного метода; все остальные привели к полностью рацемическому этиловому эфиру ацетил-DL-лейцилглицина. Тот факт, что указанные методы приводят к образованию оптически неактивного соединения, не следует истолковывать таким образом, что при наличии другой N-защитной группы (вместо ацетильной) также будут получаться рацематы; однако следует иметь в виду, что такая опасность, по-видимому, существует и она устраняется лишь при использовании азидного метода. Эта характерная особенность азидного метода говорит в пользу его применения в синтезе высших полипептидов, где вопросы оптической чистоты имеют решающее значение (раздел 25).

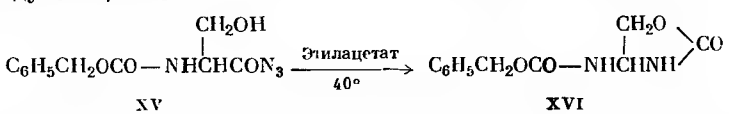
Поскольку гидроксильные группы серина и треонина не реагируют с азидами кислот в обычных условиях пептидного синтеза, азидный метод имеет особенно большое значение для синтеза пептидов, включающих остатки этих аминокислот [501, 687]. Однако поскольку азиды кислот легко вступают в конденсацию с ω-функциональными группами аргинина и лизина, то основные свойства этих групп должны быть подавлены перед реакцией конденсации. Это обычно достигается путем превращения гуанидиновой группы первой аминокислоты или в соответствующее нитро- [491, 492] или карбобензоксипроизводное [458], в то время как ε-аминогруппа лизина, как правило, блокируется путем введения подходящего ацильного остатка, например карбобензокси- [457], тозильной [393] или трифторацетильной [569] групп. С другой стороны, пептиды, имеющие в своем составе остаток гистидина, легко получаются с помощью азидного метода без предварительной защиты основного имидазольного ядра [621, 626, 695].

В связи с этим следует отметить, что, как ранее предполагалось [605, 606, 691], при взаимодействии эфира аминокислоты с карбобензокси-γ-глутамилазидом (X), в котором α-карбоксильная группа не защищена, образуются соответствующие γ-глутамилпроизводные. То, что этот метод не представляет собой общего метода получения γ-глутамилпептидов, показано Заксом и Брандом [724], которые нашли, что указанная конденсация в действительности приводит к смеси α- и γ-глутамилпроизводных (XIII и XIV соответственно), причем природа выделенного вещества в значительной степени зависит от условий реакции, метода очистки и растворимости как изомерных промежуточных соединений, так и свободных пептидов. Этот

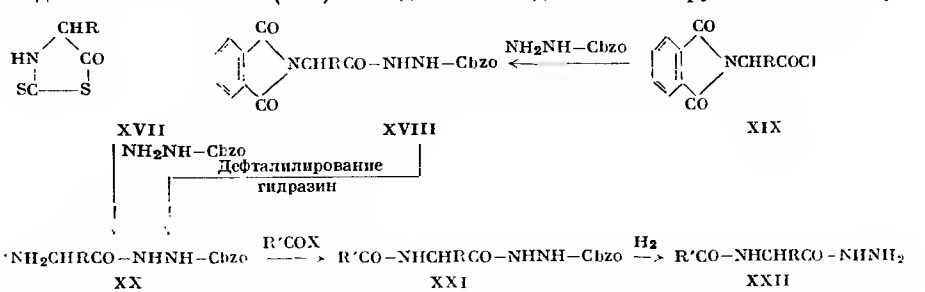


неожиданный факт объяснялся предварительным превращением карбобензокси-γ-азида (X) во внутримолекулярный циклический ангидрид карбобензоксиглутаминовой кислоты (XI) или в псевдоангидрид (XII), которые далее могут реагировать с эфиром аминокислоты как по α-, так и по γ-положению. До настоящего времени не появилось сообщений об аналогичном изучении свойств соответствующих ацил-α-глутамилазидов или α- и β-азидов ациласпарагиновых кислот, хотя такие исследования могли бы представить большой практический и теоретический интерес.

То, что в процессе пептидного синтеза азиды могут претерпевать некоторые другие, трудно предвидимые превращения, показано Прелогом и Виландом [649], которые при переведении гидразида дикарбобензокси-L-лизина в соответствующий азид выделили в качестве побочного продукта значительные количества амида дикарбобензокси-L-лизина. Впоследствии сообщалось и о других примерах такого необычного поведения азидов при пептидном синтезе [393, 606, 707]. Однако его действительный механизм еще остается невыясненным. Заслуживает упоминания также сообщение Фрутона [501] о том, что азид карбобензокси-L-серина (XV) легко перегруппировывается в 4-карбобензоксиаминооксазолидон-2 (XVI) при кратковременном нагревании его раствора в этилацетате при 40°. Однако при конденсации азида карбобензоксисерина с эфиром аминокислоты можно избежать образования больших количеств указанного побочного продукта и получить с удовлетворительным выходом соответствующий пептид, если все операции проводить на холоду [501, 631].



Родственные методы. Интересное видоизменение гидразидного метода при синтезе азидов было предложено Гофманом, Линденманом, Маги и Ханом [413, 725], которые вместо эфиров аминокислот использовали в пептидном синтезе соответствующие карбобензоксигидразиды (XX). Последние получаются или при взаимодействии производных 4-замещенных 2-тио-5-тиазолидонов (XVII) с карбобензоксигидразином, или при конденсации хлорангидрида фталиламинокислоты (XIX) с карбобензоксигидразином с последующим дефталилированием продукта конденсации (XVIII) с помощью гидразина; поскольку первый метод приводит к образованию только рацемических соединений, его использование весьма ограничено. С другой стороны, декарбобензоксилирование (XVIII) может привести к образованию гидразида соответствующей фталиламинокислоты; в частности, таким методом был получен гидразид фталилглицина. Поскольку карбобензоксигидразиды α-аминокислот (XX) обладают свободной аминогруппой, они могут



подобно эфирам аминокислот участвовать в образовании пептидной связи с помощью одного из обычных методов синтеза пептидов. Последующее удаление карбобензоксигруппы с полученного таким образом продукта конденсации (XXI) путем гидрогенолиза приводит к образованию гидразида ацилпептида (XXII), который после превращения в соответствующий азид может быть далее введен в конденсацию с другой аминокислотой, пептидом или их производными. К сожалению, большое число стадий, которые необходимы для получения карбобензоксигидразидов аминокислот, препятствует применению этих ценных промежуточных веществ в синтезе пептидов.

Таблица 86

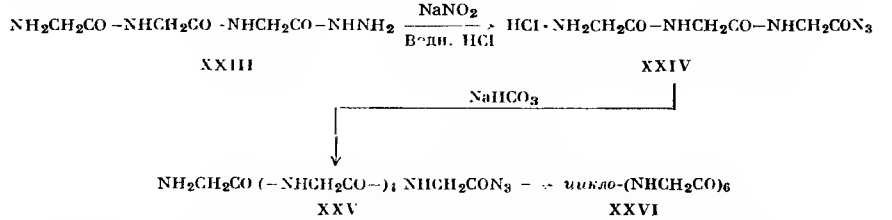
Карбобензоксигидразиды хлоргидратов аминокислот, ациламинокислот и ацилпептидов [413, 725]

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение		
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель
Производные аминокислот					
H-Ala-NHNH-Cbzo·HCl	DL	192—193	—	—	—
H-Gly-NHNH-Cbzo·HCl	—	176—178	—	—	—
H-Leu-NHNH-Cbzo·HCl	DL	171—174	—	—	—
H-Phe-NHNH-Cbzo·HCl	DL	196—198	—	—	—
Производные ациламинокислот					
Cbzo-Glu-NHNH-Cbzo	L	131—132	—26	26	1%, этанол
Phth-Gly-NHNH-Cbzo	—	194—195	—	—	—
Phth-Phe-NHNH-Cbzo	DL	155—157	—	—	—
Tos-Gly-NHNH-Cbzo	—	132—134	—	—	—
Производные ацилпептидов					
Cbzo-Glu-Gly-Gly-NHNH-Cbzo	L	162—164	—7	26	1%, метанол
Cbzo-Glu-Tyr-Gly-NHNH-Cbzo	L-L	200—202 (с разл.)	—6,5	27	2%, ледяная уксусная кислота
Cbzo-Gly-Gly-Gly-NHNH-Cbzo	—	212—215	—	—	—
Cbzo-Gly-Gly-Leu-NHNH-Cbzo	DL	196—199	—	—	—
Cbzo-Gly-Leu-Gly-NHNH-Cbzo	L	142—144	—18	26	1%, метанол
Cbzo-Gly-Phe-Gly-NHNH-Cbzo	DL	162—163	—	—	—
Cbzo-Gly-Tyr-Gly-NHNH-Cbzo	L	175—177	—3	26	1%, метанол
Tos-Gly-Tyr-Gly-NHNH-Cbzo	L	185—187	—3	26	1%, метанол

В табл. 86 перечислены некоторые из описанных до настоящего времени карбобензоксигидразидов аминокислот, а также их ацильных производных.

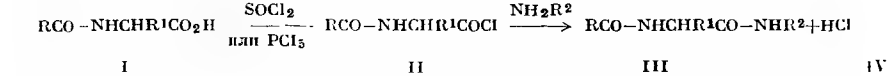
Об использовании азидов для получения полимеров аминокислот было сообщено в работе Гофмана и Маги [725а], которые показали, что в кислой среде удается провести селективное диазотирование (без сколько-нибудь значительного дезаминирования) гидразида триглицина (XXIII) до соответствующего азида (XXIV); подщелачивание концентрированного раствора азида (XXIV) приводит к образованию полиглицина. Ранее при рассмотрении методов конденсации сложных эфиров (раздел 4) уже указывалось, что использование очень разбавленных растворов благоприятствует циклизации, а не полимеризации. В этой связи следует отметить, что Шихан и Ричардсон [919] при нейтрализации бикарбонатом натрия водного раствора хлоргид-

рата триглицилазида в условиях сравнительно высокого разведения выделили циклический пентид, который впоследствии был идентифицирован (725б) как циклогексаглицил (XXVI).



Указанная реакция, по всей вероятности, протекает путем первоначальной межмолекулярной конденсации двух молекул азида триглицина с последующей циклизацией образовавшегося таким образом азида гексапептида (XXV); подобные реакции удвоения впоследствии часто наблюдались в реакциях циклизации с участием «активированных» эфиров три- и пентапептидов (раздел 38).

27. Хлорангидридный метод. *Принцип.* Ациламинокислота (I) при обработке хлористым тионилом, треххлористым фосфором или пятихлористым фосфором в инертном растворителе превращается в соответствующий хлорангидрид (II). Взаимодействие последнего с соединением, имеющим аминогруппу, например с аминокислотой или ее эфиром, происходит с выделением хлористого водорода и одновременным образованием соответствующего пептида (III). Конденсация может проводиться или в водной среде, или в среде органического растворителя в присутствии подходящего основания для нейтрализации выделяющейся кислоты.



Общие соображения. Через год после того, как Курциус [115] применил в пептидной химии азиды ациламинокислот, Фишер и Отто [121] показали, что аналогичным образом могут быть использованы и соответствующие хлорангидриды. Хотя последние были применены Фишером и его сотрудниками для синтеза ряда карбоалкокси- и α-галогенацилпептидов (разделы 6 и 7), их дальнейшее использование в пептидном синтезе было ограниченным из-за отсутствия, как и в случае азидного метода, селективно снимаемых N-защитных групп. Не являясь столь универсальным, как азидный метод, хлорангидридный метод тем не менее имел большое значение в период с 1932 по 1950 г. не только для получения карбобензокси- и тозильных производных, но и для синтеза большого количества других ацилированных пептидов, например их ацетильных и бензоильных производных, использующихся в качестве субстратов при изучении специфичности протеаз. Однако в отличие от азидного метода, который с успехом может конкурировать с новыми методами образования пептидной связи, введенными после 1950 г., хлорангидридный метод не обладает особыми преимуществами, которые позволили бы ему выдержать такую конкуренцию.

Экспериментальные условия. Хлорангидриды ациламинокислот (II) обычно получают путем обработки раствора или суспензии соответствующей ациламинокислоты (I) в эфире, бензоле или другом инертном растворителе хлористым тионилом (методика 63) или пятихлористым фосфором (методика 64). Гидроксильные группы серина, треонина, оксипролина и тирозина, сульфгидрильная группа цистеина и ω-основные группы орнитина, лизина и аргинина ввиду их реакционной способности при получении хлорангидридов указанных ациламинокислот должны быть соответствующим образом защищены. При использовании защитных групп оказывается возможным, например, получить хлорангидриды N-карбобензокси-O-ацетил-L-тирозина [378], α,δ-дикарбобензокси-L-орнитина [373] и тозил-S-бензил-L-цистеина [400]. В случае α-*n*-нитрокарбобензокси-L-аргинина, предварительно не защищенного по ω-положению, превращение его в хлорангидрид при действии хлористого тионила одновременно приводит к защите реакционноспособной гуанидиновой группировки путем образования хлоргидрата за счет выделяющегося при реакции хлористого водорода [463]. В то время как хлорангидриды ациламинокислот, содержащих тозильные, тритильные, фталильные и трифторацетильные группы, весьма ограниченно использовались в синтезе пептидов, хлорангидриды карбобензоксиаминокислот нашли более широкое применение. В табл. 87 приведены хлорангидриды некоторых ациламинокислот, которые были выделены в кристаллическом состоянии; в то же время, например, хлорангидриды карбобензокси-L-аланина [128] и фталил-L-лейцина [522] были получены лишь в виде некристаллизующихся масел. Поскольку указанные соединения при длительном контакте с влагой разлагаются до свободных ациламинокислот, они всегда должны храниться при полном отсутствии влаги. Ранее уже была отмечена (раздел 10) склонность хлорангидридов карбобензоксиаминокислот к легкому разложению до соответствующих N-карбоксиангидридов. Ввиду вышеизложенного обычно стараются избежать длительного хранения хлорангидридов и получают их непосредственно перед использованием в пептидном синтезе.

Типичная методика 63 [569]. Хлорангидрид трифторацетил-L-фенилаланина. К суспензии 261 *мг* (1 *ммоль*) трифторацетил-L-фенилаланина (методики 39—43) в 5 *мл* сухого бензола добавляют 0,2 *мл* (0,32 *г*; 2,7 *ммоль*) очищенного хлористого тионила. Смесь кипятят с обратным холодильником в течение 2,5 *час* в системе, защищенной от влаги воздуха хлоркальциевой трубкой. Растворитель и избыток хлористого тионила отгоняют в вакууме, сырой продукт реакции растворяют в 5 *мл* бензола, смесь снова упаривают в вакууме и остаток растворяют в 15 *мл* сухого бензола, горячий раствор фильтруют и после охлаждения разбавляют 10 *мл* петролейного эфира (т. кип. 30—60°). Раствор оставляют в холодильнике на ночь, кристаллический осадок собирают на стеклянном пористом фильтре и несколько раз промывают петролейным эфиром. Бесцветные тонкие шелковистые иглы хранят в вакуум-эксикаторе; выход 172 *мг* (60,3%), т. пл. 105—107°. После двух перекристаллизаций из смеси бензола с петролейным эфиром (2 : 1) получают вещество с т. пл. 109,5—111,5°; $[\alpha]_D^{28}$ + 15,5° (0,2%, в ледяной уксусной кислоте).

Типичная методика 64 [518]. Хлорангидрид фталилглицина. Суспензию 20,5 *г* (0,1 моля) фталилглицина (методика 33) и 20,8 *г* (0,1 моля) пятихлористого фосфора в 200 *мл* сухого бензола нагревают на водяной бане при 60°. Смесь время от времени встряхивают до полного растворения осадка (около 30 *мин*). После нагревания в общей сложности в течение 2 *час* раствор выпаривают в вакууме и сухой остаток перекристаллизовывают из смеси бензола с петролейным эфиром (30—60°). Выход 18,1 *г* (81%); т. пл. 83—85°.

Таблица 87

Хлорангидриды ациламинокислот

Хлорангидрид	Т. пл., °С	Литература
Хлорангидрид бензилсульфонил-L-лейцина	67	601
Дихлорангидрид карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты	46	726
Хлорангидрид α-бензилового эфира карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты	85	602, *727*
Дихлорангидрид *бис*-карбобензокси-L-цистина	67—68	*128*, 476
Хлорангидрид карбобензоксиглицина	43	128
Хлорангидрид 1, N-дикарбобензокси-L-гистидина	98—100 (с разл.)	483
Хлорангидрид α, δ-дикарбобензокси-L-орнитина	54—56	373
Хлорангидрид карбобензокси-L-фенилаланина	42	493
Хлорангидрид карбобензокси-L-триптофана	75 (с разл.)	505
Хлорангидрид N-карбобензокси-O-ацетил-L-тирозина	54	378
Хлорангидрид фенилтиокарбонил-DL-аланина	81—85	579
Хлорангидрид фенилтиокарбонилглицина	83—86	579
Хлорангидрид фталил-L-аланина	156—159	808 б
Хлорангидрид фталилглицина	85—86	518, *536*, 728, 808 б
Хлорангидрид фталил-L-лейцина	153,5—155,5	808 б
Хлорангидрид фталил-DL-фенилаланина	124—126	518
Хлорангидрид фталил-L-фенилаланина	83—84	522
Хлорангидрид тозил-DL-аланина	93—94	427
Хлорангидрид тозил-β-аланина	82—84	427
Хлорангидрид тозил-DL-α-амино-*н*-масляной кислоты	56—57	427
Хлорангидрид тозил-α-аминоизомасляной кислоты	115—116	427
Хлорангидрид тозил-S-бензил-L-цистеина	112—114	400
Дихлорангидрид тозил-L-глутаминовой кислоты	71—74 (с разл.)	686
Хлорангидрид тозилглицина	82—84	427
Хлорангидрид тозил-L-лейцина	83—85	427
Хлорангидрид тозил-DL-норлейцина	70—72	427
Хлорангидрид тозил-L-фенилаланина	128—129	440
Хлорангидрид тозил-L-пролина	56—57,5	427
Хлорангидрид тозил-DL-валина	76—78	427
β-Хлорангидрид α-этилового эфира трифторацетил-L-аспарагиновой кислоты	117—118 а	576
γ-Хлорангидрид α-этилового эфира трифторацетил-L-глутаминовой кислоты	89—90 б	477
Хлорангидрид трифторацетил-L-фенилаланина	109,5—111,5	569
Хлоргидрат хлорангидрида тритилглицина	114—115	548
Хлоргидрат хлорангидрида тритил-L-фенилаланина	190 (с разл.)	548

а $[\alpha]_D^{23}$ −26,9° (1,1%, в тетрагидрофуране).

б $[\alpha]_D^{20}$ −15,2° (1,4%, в уксусной кислоте)

Хлорангидриды ациламинокислот (II) обычно конденсируются со свободными аминокислотами в водно-щелочной среде (методика 65), а с эфирами аминокислот (или с другими аминами) — в среде какого-либо инертного органического растворителя (методика 66). Во всех случаях для нейтрализации выделяющегося в процессе реакции хлористого водорода (IV), а также для связывания карбоксильной группы в виде соответствующей соли при работе со свободными аминокислотами необходимо применение подходящего основания. Поскольку амидная связь, образованная трифторацетильным остатком, чрезвычайно чувствительна к действию щелочей, следует избегать применения сильно щелочных условий конденсации при работе с хлорангидридами трифторацетиламинокислот. Надо отметить также, что, за исключением хлорангидрида тритилглицина (и, по-видимому, хлорангидрида тритилаланина), реакции конденсации с участием хлорангидридов тритиламинокислот, как правило, не приводят к успеху ввиду значительных пространственных препятствий, обусловленных тритильной группой, что было рассмотрено ранее [548] (раздел 26). Методики 65 и 66 иллюстрируют лишь два типа реакций, которые применяются в синтезе пептидов с участием хлорангидридов ациламинокислот.

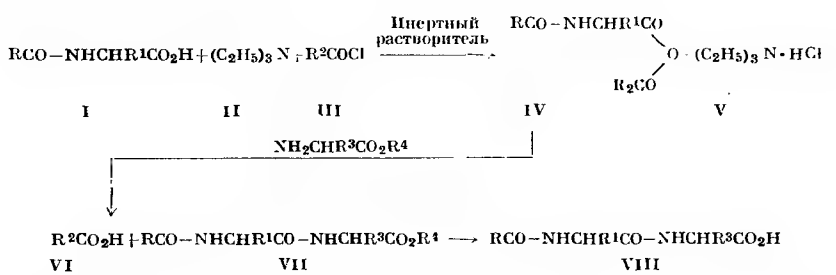
Типичная методика 65 [518]. Фталилглицилглицин. Раствор 4,47 *г* (0,02 моля) хлорангидрида фталилглицина (методика 64) в 25 *мл* диоксана при перемешивании добавляют по каплям в течение 30 *мин* к охлаждаемой (5°) суспензии 1,5 *г* (0,02 моля) глицина и 1,21 *г* (0,03 моля) окиси магния в 75 *мл* воды. Смесь перемешивают еще 10 *мин* при комнатной температуре и подкисляют соляной кислотой. Часть продукта реакции, выпадающую в виде кристаллов, отфильтровывают; другую порцию получают при упаривании фильтрата в вакууме. Сырое вещество перекристаллизовывают из этанола; выход 89,5%; т. пл. 229—231°.

Типичная методика 66 [569]. Анилид трифторацетил-L-фенилаланина. Сырой хлорангидрид трифторацетил-L-фенилаланина (методика 63), полученный из 264,6 *мг* (0,946 *ммоля*) ациламинокислоты, растворяют в 5 *мл* сухого бензола. К охлажденному раствору медленно добавляют раствор 0,21 *мл* (0.2 *г*; 2,4 *ммоль*) анилина в 5 *мл* бензола; при этом выпадает тяжелый белый осадок. Реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 1 *час*, растворитель отгоняют в вакууме, твердый остаток экстрагируют водой (3×4 *мл*) и сырой продукт реакции перекристаллизовывают из 10 *мл* 70%-ного водного этанола. Белые тонкие шелковистые иглы отфильтровывают на холоду, промывают водой (2×5 *мл*) и высушивают в вакууме; выход 275,6 *мг* (80,8%); т. пл. 195,5—198,5°; $[\alpha]_D^{27}$ +54,3° (3,9%, в 95%-ном этаноле).

Область применения и ограничения. Как уже отмечено, ациламинокислоты, имеющие в боковой цепи свободную гидроксильную или тиольную группы, могут быть легко превращены в соответствующий азид, но не в хлорангидрид. С другой стороны, оптически активные ациламинокислоты устойчивы к рацемизации при конденсации с эфиром аминокислоты с помощью азидного метода, в то время как применение хлорангидридного метода, как правило, приводит к потере оптической активности. Легкость рацемизации хлорангидридов некоторых ациламинокислот, по всей вероятности, связана с тем, что эти соединения в действительности существуют в форме галогенгидратов азлактонов или способны легко в них превращаться (раздел 8). Во всяком случае, скорость, с которой эти соединения подвергаются рацемизации, по-видимому, в значительной степени зависит

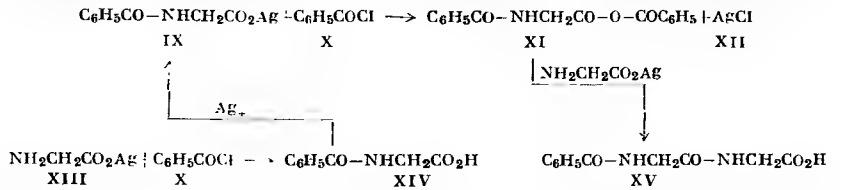
от природы их N-защитных групп. Это находит свое подтверждение в значительной инактивации оптически активных ацетаминокислот при их превращении в хлорангидриды [681] в противоположность полной устойчивости к рацемизации соответствующих карбобензоксиаминокислот при аналогичной обработке [128]. Подобным образом при превращении фталил- [522] или трифторацетил-L-фенилаланина [569] в соответствующий хлорангидрид не наблюдается заметной потери оптической активности. Выделение исходных ациламинокислот из их хлорангидридов показывает, что в результате такой химической обработки не происходит существенного изменения величины оптического вращения. Что касается трифторацетильной группы, то проведенными в лаборатории автора исследованиями было показано, что *бис*-(трифторацетил)-L-цистин совершенно не рацемизуется при действии смеси ледяной уксусной кислоты с уксусным ангидридом; напротив, в аналогичных условиях *бис*-(ацетил)-L-цистин полностью теряет оптическую активность [299]. По-видимому, способность ациламинокислот к рацемизации (путем промежуточного образования азлактонов) зависит среди ряда других причин от кислотности ацильной группы, а также от пространственных факторов. Однако для выявления каких-либо определенных закономерностей необходимо дальнейшее изучение этого вопроса.

28. Метод смешанных ангидридов карбоновых кислот. *Принцип.* Ациламинокислота или ацилированный пептид (I) в инертном растворителе, содержащем один эквивалент третичного основания, например триэтиламина (II), при действии хлорангидрида алифатической или ароматической кислоты (III) превращается в соответствующий смешанный ангидрид (IV). Ангидрид (IV), как правило, не выделяют в свободном состоянии, а сразу конденсируют далее с щелочной солью или эфиром аминокислоты или пептида; при этом образуется нужное пептидное производное (VII) и выделяется карбоновая кислота (VI). Превращение пептида (VII) в соответствующую свободную кислоту (VIII) с помощью одного из обычных методов и последующее повторение указанных выше операций приводит к удлинению пептидной цепи.



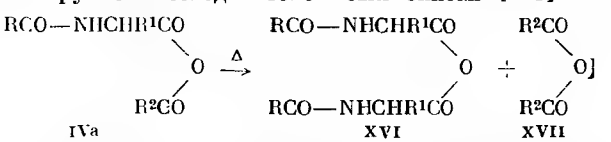
Общие соображения. Можно считать, что смешанный ангидрид ациламинокислоты и другой карбоновой кислоты был впервые описан в 1865 г. Краутом и Хартманом [129], которые при действии бензоилхлорида (X) на суспензию серебряной соли гиппуровой кислоты (IX) в кипящем эфире получили гиппурилбензоат (XI). Примерно через пятнадцать лет Курциус [114, 730] неожиданно использовал указанное соединение (XI) в синтезе пептидов; оказалось, что при обработке суспензии серебряной соли глицина (XIII) в кипящем бензоле хлористым бензоилом наряду с гиппуровой кислотой (XIV) образуется ацилдипептид — гиппурилглицин (XV). Хотя

Курциусу были хорошо известны работы Краута и Хартмана, он не учел



возможности того, что этот ацилдипептид мог образоваться через смешанный ангидрид (XI); напротив, он считал, что дипептид получается в результате ацилирования серебряной соли глицина хлорангидридом гиппуровой кислоты: «Процесс образования гиппуриламиноуксусной кислоты протекает таким образом, что в первую очередь хлористый бензоил реагирует с серебряной солью глицина, причем образуются гиппуровая кислота и хлористое серебро. Далее хлористый бензоил взаимодействует с гиппуровой кислотой, давая бензойную кислоту и хлорангидрид гиппуровой кислоты; наконец, последний реагирует со второй молекулой серебряной соли глицина, образуя гиппурилгликокол и хлористое серебро». Приблизительно через семьдесят пять лет Виландом и Зерингом [731] было установлено, что приведенная выше реакция протекает через промежуточно образующийся гиппурилбензоат (XI).

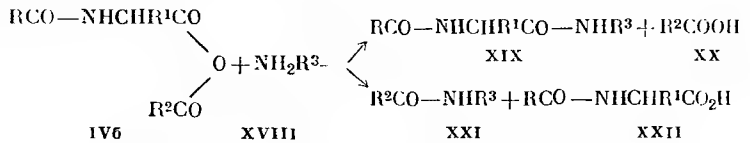
В течение долгого времени возможность использования смешанных ангидридов карбоновых кислот для синтеза пептидов оставалась неясной; лишь в 1950 г. Виланду, Керну и Зерингу [732] удалось выделить и охарактеризовать смешанные ангидриды N-ациламинокислот с уксусной или бензойной кислотами, а также изучить их реакционную способность по отношению к аминам. По модифицированной методике Краута и Хартмана [729] были получены в кристаллическом виде карбобензоксиглицилацетат (т. пл. 44°), карбобензокси-DL-аланилбензоат (т. пл. 64°) и фталилглицилбензоат (т. пл. 125°); эти соединения (IVa) легко диспропорционируются до соответствующих симметричных ангидридов (XVI и XVII) при нагревании их как в кристаллическом состоянии, так и в растворе. Одновременно этой же группой исследователей был описан [731] более удобный



метод получения такого рода смешанных ангидридов с бензойной кислотой (IV, $R^2 = C_6H_5$) путем взаимодействия при 0—5° эквимолекулярных количеств ациламинокислоты (I), хлористого бензоила (III; $R^2 = C_6H_5$) и третичного амина в каком-либо инертном органическом растворителе, например в бензоле или бензонитриле. Полученный таким образом ангидрид (IV) не выделялся в свободном состоянии, а сразу конденсировался далее с натриевой или калиевой солью аминокислоты в водном растворе или с эфиром аминокислоты с образованием соответствующего пептида (VII). Этими исследованиями была создана основа для разработки упрощенного способа синтеза пептидов, призванного отчасти заменить классический азидный метод и полностью вытеснить хлорангидридный метод.

В противоположность реакции между азидом или хлорангидридом кислоты и каким-либо амином, которая, вообще говоря, может идти лишь

в одном направлении, в реакции смешанного ангидрида карбоновой кислоты (IVб) с амином (XVIII) теоретически может участвовать как одна, так и другая карбонильные группы:



Применимость смешанных ангидридов (IVб) в качестве промежуточных веществ для синтеза пептидов определяется, естественно, тем, в какой мере реакция конденсации идет в нужном направлении. Хотя упомянутый выше метод Вилаида и Зеринга [731], по-видимому, не приводил к образованию заметных количеств нежелательного побочного продукта (XXI), тем не менее весьма важно установить, является ли такое поведение смешанных ангидридов типа (IVб) строгим правилом или нет. В связи с этим необходимо отметить работы Эмери и Голда [733], касающиеся влияния пространственных факторов, распределения зарядов и полярности растворителя на соотношение хлорацетанилида (XXV) и ацетанилида (XXVI), образующихся при реакции смешанного ангидрида уксусной и хлоруксусной кислот (XXIII) с анилином (XXIV):

$$\underset{\text{XXIII}}{ClCH_2CO—O—COCH_3} + \underset{\text{XXIV}}{NH_2C_6H_5} \rightarrow \underset{\text{XXV}}{ClCH_2CO—NHC_6H_5} + \underset{\text{XXVI}}{CH_3CO—NHC_6H_5}$$

По данным этих исследователей, нуклеофильной атаке амином в первую очередь подвергается тот углеродный атом карбонильной группы смешанного ангидрида, который имеет наименьшую электронную плотность и при прочих равных условиях является стерически наименее экранированным. Однако следует подчеркнуть, что хотя эти выводы вполне справедливы для реакций конденсации в неводных растворителях, тем не менее они оказались совершенно неприменимыми для реакций, проводимых в водных средах. Во всяком случае, можно сделать вывод, что для получения пептидов через смешанные ангидриды ациламинокислот и карбоновых кислот в неводных средах та карбонильная группа ангидрида, реакционную способность которой необходимо подавить, должна обладать такими пространственными и электронными характеристиками, которые уменьшают ее чувствительность к нуклеофильной атаке и, следовательно, способствуют замещению у менее экранированного и более электрофильного углеродного атома.

Принимая во внимание вышеизложенное, Воган и Осато [734] использовали неводные растворители для сравнительного определения выходов анилида карбобензоксиглицина (XXX) при реакции анилина с различными смешанными ангидридами (XXIX); последние в свою очередь были получены при взаимодействии карбобензоксиглицина (XXVII) с хлорангидридами ряда алифатических и ароматических карбоновых кислот (XXVIII) (см. методику 67):

$$\underset{\text{XXVII}}{Cbzo—NHCH_2CO_2H} + \underset{\text{XXVIII}}{RCOCl} \xrightarrow[\text{Толуол}]{(C_2H_5)_3N} \underset{\text{XXIX}}{Cbzo—NHCH_2CO—O—COR} \xrightarrow{NH_2C_6H_5}$$

$$\rightarrow \underset{\text{XXX}}{Cbzo—NHCH_2CO—NHC_6H_5}$$

Выход анилида карбобензоксиглицина, выделенного в каждом случае, служил критерием соотношения продуктов ацилирования (табл. 88). Поскольку алкильные группы алифатических кислот, имеющих разветвление в α- и β-положениях, например триметилуксусной, диэтилуксусной и изовалериановой, в значительной степени обусловливают как пространственный, так и положительный индуктивный эффекты, то становится очевидным, что смешанные ангидриды, содержащие остатки этих кислот, теоретически должны приводить к такому соотношению продуктов ацилирования, в котором преобладает продукт ацилирования остатком ациламинокислоты. С другой стороны, влияние отрицательных индуктивного и электронного эффектов остатков ароматических кислот на углеродный атом карбонильной группы смешанного ангидрида должно привести к уменьшению выхода нужного продукта реакции. Справедливость этих выводов подтверждается данными, приведенными в табл. 88.

Типичная методика 67 [734]. Анилид карбобензоксиглицина. Раствор 5,23 *г* (0,025 моля) карбобензоксиглицина (методика 28) и 2,55 *г* (0,025 моля) триэтиламина в 50 *мл* толуола охлаждают до 0° и к нему добавляют 3,01 *г* (0,025 моля) хлорангидрида изовалериановой кислоты. Смесь выдерживают при этой температуре 2 *час* (в течение этого времени выпадает хлоргидрат триэтиламина), добавляют к ней 2,34 *г* (0,025 моля) анилина и оставляют на ночь при 8°. Выпавший из реакционной смеси кристаллический анилид карбобензоксиглицина отфильтровывают (вместе с хлоргидратом триэтиламина), промывают последовательно водой, разбавленным раствором едкого натра, разбавленной соляной кислотой и высушивают; выход 5,7 *г* (83%), т. пл. 146—147°. Те же самые условия реакции были использованы в случае других хлорангидридов, перечисленных в табл. 88.

Таблица 88

Получение анилида карбобензоксиглицина методом смешанных ангидридов с карбоновыми кислотами [734]

Хлорангидрид карбоновой кислоты (указана кислота)	Выход, %	Хлорангидрид карбоновой кислоты (указана кислота)	Выход, %
Уксусная	36	Пирослизевая	46
Диметилуксусная	65	2-Метоксибензойная	18
Диэтилуксусная	85	4-Метоксибензойная	59
Триметилуксусная	72	2,4-Диметоксибензойная	38
Изовалериановая	83	3,4,5-Триметоксибензойная	15
Изокапроновая	36	2-Метилбензойная	38
Энантовая	31	2-Хлорбензойная	34
Лауриловая	49	4-Хлорбензойная	63
Гексагидробензойная	37	2,4-Дихлорбензойная	49
Фенилуксусная	40	3,4-Дихлорбензойная	62
Гексагидрофенилуксусная	35	3-Бромбензойная	48
Трихлоруксусная	48	2-Иодбензойная	45
Бензойная	62		

Экспериментальные условия. Поскольку смешанные ангидриды, содержащие остаток изовалериановой кислоты, оказались наиболее удачными

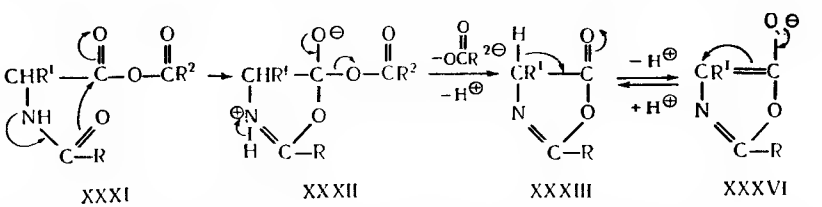
среди соединений этого типа (табл. 88), это послужило причиной широкого использования хлорангидрида изовалериановой кислоты в качестве реагента для синтеза пептидов. Производные пептидов (VII) обычно получают путем обработки раствора эфира аминокислоты в инертном органическом растворителе или свободной аминокислоты в водно-щелочной среде раствором соответствующего смешанного ангидрида (IV; $R^2 = (CH_3)_2CHCH_2$) в течение примерно 12 *час* при температуре не выше 10°. Смешанный ангидрид (IV) в свою очередь образуется при взаимодействии ациламинокислоты (I) с хлорангидридом изовалериановой кислоты (III; $R^2 = (CH_3)_2CHCH_2$) в инертном растворителе, содержащем один эквивалент третичного амина, например, триэтил-, триметил- или три-*н*-бутиламина. Чтобы свести к минимуму опасность диспропорционирования, смешанный ангидрид обычно получают при температуре от —5 до +5° в течение не более 2 *час*. Такие условия обеспечивают оптимальный выход промежуточного смешанного ангидрида и в то же время уменьшают вероятность протекания побочных реакций, приводящих к значительному загрязнению конечного продукта реакции. Поскольку наличие влаги в процессе образования смешанного ангидрида приводит к снижению общего выхода, для получения наиболее удовлетворительных результатов следует использовать тщательно высушенные растворители и предохранять реакционную смесь от влаги воздуха. Наиболее подходящими растворителями для этой цели являются толуол, хлороформ, хлористый метилен, этилацетат, эфир и диоксан. Не рекомендуется использовать растворители, которые реагируют со смешанными ангидридами, например спирты. Методика, приведенная ниже для получения этилового эфира карбобензокси-L-лейцилглицина (методика 68), может быть, вообще говоря, использована для синтеза ацилированных пептидов, содержащих два или более аминокислотных остатка.

Типичная методика 68 [734]. Этиловый эфир карбобензокси-L-лейцилглицина. Раствор 5,30 *г* (0,02 моля) карбобензокси-L-лейцина (см. методику 29) и 2,04 *г* (0,02 моля) триэтиламина в смеси 25 *мл* толуола и 25 *мл* хлороформа охлаждают до —5° и к нему добавляют 2,41 *г* (0,02 моля) хлорангидрида изовалериановой кислоты. Через 1,5 *час* добавляют предварительно охлажденный раствор 2,79 *г* (0,02 моля) хлоргидрата этилового эфира глицина (см. методику 48) и 2,04 *г* (0,02 моля) триэтиламина в 50 *мл* хлороформа и реакционную смесь оставляют на ночь при 8°. Раствор промывают последовательно водой и 3%-ным раствором бикарбоната натрия и разбавляют петролейным эфиром до помутнения. После охлаждения смеси продукт реакции выпадает в виде бесцветных кристаллов; выход 2,17 *г* (31%), т. пл. 103—104°. Маточный раствор концентрируют в токе воздуха почти досуха и остаток разбавляют петролейным эфиром; получают вторую порцию кристаллов; выход 2,98 *г* (43%); т. пл. 102—103°. После перекристаллизации объединенных фракций из водного этанола получают 4,90 *г* (70%) чистого кристаллического вещества с т. пл. 105—106°.

Следует отметить, что в описанной выше методике для выделения эфира аминокислоты из соответствующего хлоргидрата добавляют эквимолекулярное количество триэтиламина. Необходимость этого отпадает в случае применения свободных эфиров аминокислот. Применяемые растворители можно варьировать в зависимости от растворимости реагентов. Поскольку выделяющаяся в процессе конденсации изовалериановая кислота обладает неприятным запахом, реакцию лучше всего проводить под тягой или в комнате с хорошей вентиляцией.

Область применения и ограничения. Хотя метод смешанных ангидридов карбоновых кислот приводит к вполне удовлетворительным результатам при использовании в качестве исходных веществ фталил-, карбобензокси- или большинства других ациламинокислот, в случае трифторацетиламинокислот соответствующий продукт реакции образуется лишь с незначительным выходом [573]. Как и в случае хлорангидридного метода, применение тритиламинокислот ограничено сравнительно менее экранированными производными глицина и аланина [548], а реакционноспособные функциональные группировки боковых цепей некоторых аминокислот, например гидроксильная, сульфгидрильная, ω-амино- и ω-карбоксильная группы, должны быть соответствующим образом защищены. Поскольку ациламинокислоты, имеющие разветвление в β-положении боковой цепи, например валин и изолейцин, обусловливают значительные стерические препятствия, при использовании этих аминокислот всегда наблюдаются низкие выходы продуктов реакции. Если же стерические препятствия незначительны, а реакционноспособные группировки боковых цепей аминокислотных остатков соответствующим образом защищены, можно предполагать, что указанный метод приведет к удовлетворительному общему выходу продукта реакции.

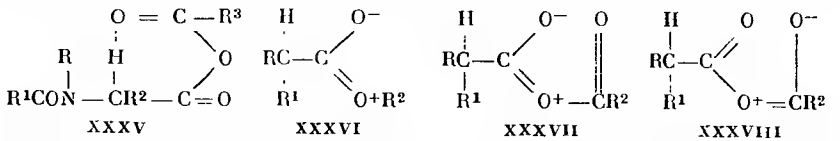
Ранее уже отмечалась заметная склонность к рацемизации некоторых смешанных ангидридов, содержащих остатки оптически деятельных аминокислот. Согласно принятой в настоящее время концепции, в таких случаях рацемизация связана, по-видимому, с превращением смешанного ангидрида (XXXI) в соответствующий азлактон (XXXIV) (см. раздел 8). Бэйкер, Оллис и Пул [735] предположили, что этот процесс сопровождается рядом электронных сдвигов.



Здесь уместно подчеркнуть еще раз, что на степень рацемизации большое влияние оказывает природа заместителя, связанного с остатком оптически активной аминокислоты. Например, в то время как ацетиламинокислоты весьма легко подвергаются рацемизации при превращении их в соответствующие смешанные ангидриды, карбобензоксиаминокислоты в тех же условиях совершенно не теряют оптической активности. В такой же степени устойчивы к рацемизации оптически активные фталиламинокислоты, поскольку последние не способны к образованию азлактонов ввиду отсутствия протона у атома азота.

В связи с этим интересно отметить, что замещение водорода α-амидной связи ациламинокислот на метильную группу приводит к значительному повышению устойчивости этих соединений к рацемизации, но не исключает последнюю [302, 736]. Это говорит о существовании другого механизма рацемизации, отличного от азлактонного. Стейгером [737], а также Картером и Стивенсом [738] было высказано предположение, что в случае смешанных ангидридов этот процесс рацемизации может быть обусловлен активирующим влиянием ангидридной группировки на атом водорода, связанный с асимметрическим атомом углерода. Эта концепция была

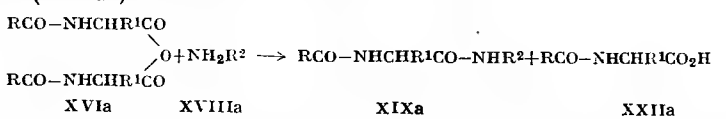
развита Нейбергером [739]; он предположил, что пространственное расположение молекулы ангидрида может создать условия для участия электронодонорного атома кислорода в образовании водородной связи и способствовать, таким образом, ионизации протона у асимметрического α-углеродного атома; это иллюстрируется формулой XXXV. Было предложено также еще одно объяснение, основанное на теории резонанса [239]. Так,



XXXV XXXVI XXXVII XXXVIII

можно ожидать, что резонанс карбоксиалкильной группировки в оптически активном сложном эфире (XXXVI) не приведет к рацемизации, поскольку положительный и отрицательный заряды внутри молекулы находятся приблизительно на равном расстоянии от асимметрического центра. Несколько другое положение имеет место в случае молекулы смешанного ангидрида, которая преимущественно проявляет резонанс сложноэфирного типа (XXXVII), но, кроме того, может обладать и структурой типа (XXXVIII), в которой амидная связь активируется электростатическими силами и, таким образом, способствует рацемизации благодаря облегчению ионизации у асимметрического центра. Во всяком случае, очевидно, что при рассмотрении процессов рацемизации в смешанных ангидридах, кроме образования азлактонов, следует принимать во внимание и эффект электростатического активирования внутри самой молекулы.

Родственные методы. Ранее уже отмечалась тенденция смешанных ангидридов карбоновых кислот к диспропорционированию с образованием смеси двух симметричных ангидридов. Реакция симметричного ангидрида ациламинокислоты (XVIa) с аминами в общем случае приводит к образованию эквимолекулярных количеств соответствующего амида (XIXa) и ациламинокислоты (XXIIa):

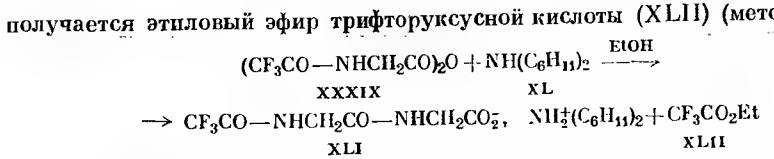


XVIa XVIIIa XIXa XXIIa

Так, например, при взаимодействии симметричного ангидрида карбобензоксиглицина (т. пл. 118°) с анилином образуются анилид карбобензоксиглицина и карбобензоксиглицин [732]. Поскольку максимальный общий выход (считая на количество исходной ациламинокислоты) может составить лишь 50%, применение симметричных ангидридов ациламинокислот в качестве ацилирующих агентов для синтеза пептидов не может иметь большого практического значения.

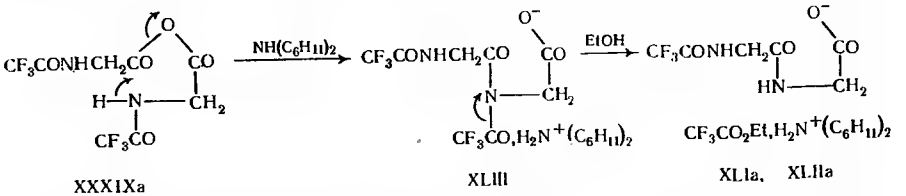
В этой связи интересно упомянуть о своеобразном поведении симметричных ангидридов трифторацетиламинокислот. Так, симметричный ангидрид трифторацетилглицина (XXXIX) (т. пл. 158°) может быть легко получен с практически количественным выходом путем нагревания глицина с избытком трифторуксусного ангидрида [568, 573]. При последующей обработке (XXXIX) эквимолекулярным количеством дициклогексиламина (XL) в этаноле при комнатной температуре не образуется, как это можно было бы ожидать, дициклогексиламид трифторацетилглицина, а выпадает дициклогексиламмониевая соль трифторацетилглицилглицина (XLI) и одновременно

получается этиловый эфир трифторуксусной кислоты (XLII) (методика 69).



XXXIX XL XLI XLII

Поскольку соединение XLI получается с выходом 85%, можно считать, что здесь имеет место внутримолекулярная перегруппировка [573]. Механизм такой перегруппировки становится понятным, если предположить, что благодаря мощному индуктивному эффекту электроотрицательной CF_3-группы происходит значительная активация атома водорода имидной группы (XXXIXa), что способствует образованию соли с введенным в реакцию амином. Последующая нуклеофильная атака С-концевой карбонильной группы атомом азота одной из соседних имидных групп приводит к дициклогексиламмониевой соли N, N-диациламинокислоты (XLIII), которая в свою очередь легко расщепляется спиртом с образованием конечных продуктов реакции (XLIa, XLIIa). Сопровождающие эту перегруппировку электронные смещения могут быть изображены следующей схемой:



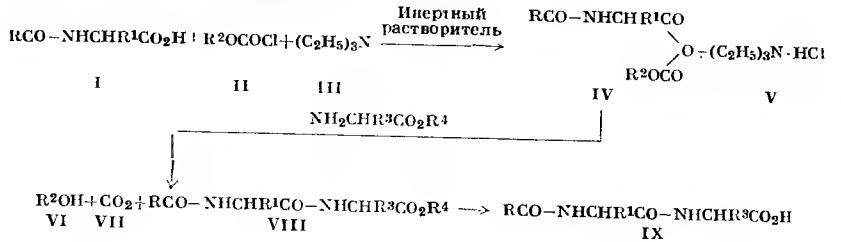
XXXIXa XLIII XLIa, XLIIa

Аналогичная перегруппировка наблюдалась также в случае симметричного ангидрида трифторацетил-DL-аланина [571].

Типичная методика 69 [573]. N-Трифторацетилглицилглицин. Раствор 1 *г* глицина в 4,2 *мл* трифторуксусного ангидрида кипятят короткое время с обратным холодильником (температура бани 50°). Реакционную смесь выпаривают в вакууме досуха и остаток перекристаллизовывают из смеси тетрагидрофурана с бензолом (1 : 1). Получают с практически количественным выходом симметричный ангидрид трифторацетилглицина, т. пл. 158°. К 0,64 *г* последнего добавляют раствор 0,43 *мл* дициклогексиламина в 10 *мл* абсолютного этанола. Из образовавшегося прозрачного раствора вскоре начинает выпадать дициклогексиламмониевая соль трифторацетилглицилглицина. Продукт реакции отфильтровывают на воронке Бюхнера и промывают небольшим количеством абсолютного этанола; выход 85%, т. пл. 242° (с разложением). Для превращения полученной соли в свободную кислоту 2,7 *г* ее растворяют в 40 *мл* воды и раствор встряхивают в течение 5 *мин* с 10 *г* ионита дауэкс-50. Ионообменную смолу отфильтровывают, промывают 10 *мл* воды и объединенные фильтрат и промывные воды выпаривают в вакууме досуха при температуре 25°. Кристаллический остаток растворяют в ацетоне, раствор обрабатывают активированным углем и трифторацетилглицилглицин высаживают бензолом; выход 74%, т. пл. 185°.

29. Метод смешанных ангидридов карбоновых и алкилугольных кислот. *Принцип.* При обработке раствора ациламинокислоты (I) или ацилированного пептида одним эквивалентом алкилхлоркарбоната (II) и одним эквивалентом третичного амина, например триэтиламина, в отсутствие влаги образует-

ся соответствующий смешанный ангидрид карбоновой и алкилугольной кислот (IV). Конденсация ангидрида (IV) без его выделения с калиевой (натриевой) солью или эфиром аминокислоты или пептида приводит к образованию соответствующего пептида (VIII), а также спирта (VI) и двуокиси углерода (VII). Превращение VIII в соответствующую свободную кислоту (IX) делает возможным дальнейшую конденсацию последней с еще одним молем амина с использованием аналогичного метода.

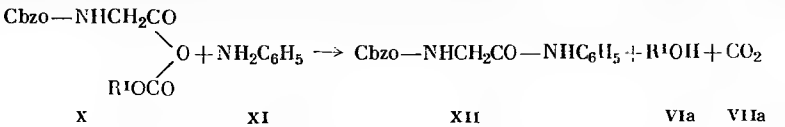


Общие соображения. В 1951—1952 гг. Воган и Осато [721], Буассона [740], а также Виланд и Бернхард [741] независимо друг от друга пришли к заключению, что смешанные ангидриды ациламино- и алкилугольных кислот могут служить превосходными ацилирующими средствами при синтезе пептидов. Особая ценность таких смешанных ангидридов карбоновых и алкилугольных кислот (IV) заключается в их способности конденсироваться с аминокомпонентом таким образом, что в результате образуется почти исключительно нужный пептид (VIII), а основными побочными продуктами реакции являются легко удаляемые спирт (VI) и двуокись углерода (VII). Благодаря этому соответствующий пептид выделяется в достаточно чистом виде, что в значительной степени устраняет необходимость многократных перекристаллизаций для отделения примесей. Работами Вогана и Осато [721], посвященными изучению относительных выходов анилида карбобензоксиглицина (XII), образующегося при действии анилина (XI) на различные смешанные ангидриды карбобензоксиглицина (X), было показано, что в данном случае пространственные и индуктивные эффекты алкильных групп имеют гораздо меньшее значение, чем в случае смешанных ангидридов карбоновых кислот (раздел 28). Эти результаты, приведенные в табл. 89, согласуются с более поздними данными Виланда и Штимминга [742] о том, что при действии водных растворов гидроксиламина на растворы различных смешанных ангидридов в бензоле гидроксиламин реагирует с более электрофильной карбонильной группой и при этом одновременно образуется более слабая кислота.

Таблица 89

Получение анилида карбобензоксиглицина методом смешанных ангидридов карбоновых и алкилугольных кислот [721]

Алкилхлоркарбонат (указана алкильная группа)	Выход, %	Алкилхлоркарбонат (указана алкильная группа)	Выход, %
Этил	58	1-(2-Метилпропил)-3-метилбутил	65
Изопропил	49	Циклогексил	61
Изобутил	68	3,3,5-Триметилциклогексил	61
втор-Бутил	70	Бензил	44
2-Этилбутил	55		
1,3-Диметилбутил	64		
1-Этиламил	67		



Экспериментальные условия. Смешанные ангидриды карбоновых и алкилугольных кислот (IV) обычно получают путем взаимодействия эквимолекулярных количеств алкилхлоркарбоната (II) и ациламинокислоты (I) в безводных условиях в присутствии одного эквивалента третичного амина. Из алкилхлоркарбонатов наиболее часто используются соответствующие этильное, *втор*-бутильное и изобутильное производные. Хотя количество растворителя при этой реакции обычно составляет от 25 до 50 *мл* на 0,01 моля реагента, выход соответствующего смешанного ангидрида практически не зависит ни от относительного количества используемого растворителя, ни от наличия небольшого избытка ациламинокислоты, алкилхлоркарбоната или третичного основания [721]. С другой стороны, чрезвычайно важную роль в процессе образования ангидрида играет температура, так как реакция обычно не идет в нужном направлении при температурах выше +15°, а понижение температуры до —20° и ниже приводит к заметному уменьшению общего выхода. При высоких температурах, по всей вероятности, происходит быстрое диспропорционирование ангидрида [741]. Вследствие этого реакцию образования ангидрида обычно проводят при —5° в течение 25—30 *мин*; этого времени обычно вполне достаточно для полного завершения реакции [721]. Реакция ангидрида (IV) с эфиром аминокислоты в среде органического растворителя (методика 70) или со свободной аминокислотой в водно-щелочной среде (методика 71) приводит к образованию соответствующего пептида (VIII), спирта (VI) и выделению двуокиси углерода (VII).

Типичная методика 70 [473]. Этиловый эфир карбобензокси-S-бензил-L-цистеинил-S-бензил-L-цистеина. Раствор 346 *г* (1 моль) карбобензокси-S-бензил-L-цистеина (методика 28) и 139 *мл* (1 моль) триэтиламина в 3 *л* толуола охлаждают до —5° и обрабатывают 131 *мл* (1 моль) изобутилхлоркарбоната. Через 25 *мин* добавляют охлажденный раствор 276 *г* (1 моль) хлоргидрата этилового эфира S-бензил-L-цистеина (методика 48) и 139 *мл* триэтиламина в 2 *л* хлороформа и смесь оставляют на ночь при 25°. Добавляют еще 1 *л* хлороформа, смесь промывают последовательно водой, 3%-ным раствором бикарбоната натрия, водой и, наконец, высушивают безводным сульфатом натрия. Фильтрат упаривают в вакууме до небольшого объема и оставшийся раствор обрабатывают петролейным эфиром. Осадок этилового эфира карбобензокси-S-бензил-L-цистеинил-S-бензил-L-цистеина отфильтровывают и перекристаллизовывают из этанола. Выход 382 *г* (67%); т. пл. 105° (исправленная); $[\alpha]_D^{25}$ —55,3° (2%, в ацетоне).

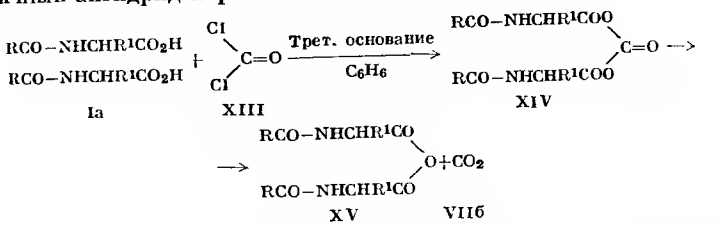
Типичная методика 71 [721]. Карбобензоксиглицил-DL-фенилаланин. Раствор 4,18 *г* (0,02 моля) карбобензоксиглицина (методики 28 и 30) и 2,04 *г* (0,02 моля) триэтиламина в 50 *мл* толуола охлаждают до —5° и к нему добавляют 2,73 *г* (0,02 моля) изобутилхлоркарбоната. Через 25 *мин* прибавляют раствор 3,28 *г* (0,02 моля) DL-фенилаланина в 20 *мл* 1 н. раствора едкого натра и смесь энергично перемешивают в течение 2—3 *час*. За это время смесь

нагревается до комнатной температуры, причем происходит выделение двуокиси углерода. Водный слой отделяют, экстрагируют эфиром и подкисляют соляной кислотой. Выпавшее при этом бесцветное масло быстро кристаллизуется при охлаждении. После двух перекристаллизаций из водного этанола получают 4,5 *г* (63%) чистого продукта реакции; т. пл. 160—162°.

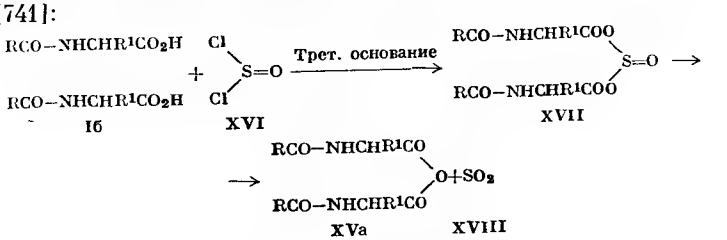
Область применения и ограничения. В тех случаях, когда при синтезе пептидов возможно применение метода смешанных ангидридов карбоновых и алкилугольных кислот, можно ожидать, что его использование приведет в общем случае с удовлетворительным выходом к продукту реакции высокой степени чистоты. Этот метод применим к реакциям конденсации, в которых участвует большинство ациламинокислот, за исключением трифторацетил- и тритиламинокислот; в последнем случае область применения реакции ограничена тритильными производными глицина и аланина. Как и рассмотренный ранее метод смешанных ангидридов карбоновых кислот (раздел 28), данный метод требует предварительной защиты реакционноспособных функциональных групп в боковых цепях аминокислот, например гидроксильной, сульфгидрильной и ω-карбоксильной групп (в последнем случае для предотвращения образования ангидрида). Однако в отличие от первого метода пространственные препятствия, обусловленные наличием разветвления в β-положении боковой цепи остатков аминокислот, например валина и изолейцина, не играют здесь столь существенной роли; поэтому можно ожидать, что ациламинокислоты, включающие такого рода остатки, в целом будут легко вступать в реакцию конденсации без сколько-нибудь значительных осложнений. Это было подтверждено в лаборатории автора Пейком, которому удалось получить этим методом бензиловый эфир карбобензокси-L-валил-L-валина с выходом около 82% путем конденсации карбобензокси-L-валина с бензиловым эфиром L-валина.

Условия, при которых смешанные ангидриды карбоновых и алкилугольных кислот, содержащие остатки оптически активных аминокислот, подвергаются рацемизации, а также механизм этого процесса не отличаются от условий и механизма в случае смешанных ангидридов карбоновых кислот; поэтому здесь нет необходимости останавливаться на этом вопросе еще раз. Интересно отметить, однако, что в то время, как при использовании в качестве одного из реагентов для получения пептидов методом смешанных ангидридов оптически активных карбобензокси- или фталиламинокислот последние не обнаруживают заметной тенденции к рацемизации, использование в конденсации указанным методом соответствующих ацилированных дипептидов (или высших пептидов) может сопровождаться значительной потерей оптической активности. Так, по данным Вогана [682], смешанный ангидрид, полученный из карбобензоксиглицил-L-фенилаланина и изобутилхлоркарбоната, при конденсации с этиловым эфиром глицина в хлороформном растворе образует полностью рацемическое производное трипептида. Использование в качестве растворителя смеси толуола с диоксаном приводит лишь к незначительной рацемизации, в то время как при применении для этой цели тетрагидрофурана не наблюдается сколько-нибудь заметной потери оптической активности. Таким образом, природа растворителя может оказывать весьма существенное влияние на стереохимический состав продукта реакции. Однако вопрос о том, насколько важна роль растворителя при синтезах с самыми различными производными, до настоящего времени еще не выяснен. Поэтому, в тех случаях, когда необходимы соединения высокой степени оптической чистоты, следует избегать применения смешанных ангидридов ацилпептидов, содержащих остатки оптически активных аминокислот.

Родственные методы. При обработке раствора ациламинокислоты (Ia) в бензоле, содержащем один эквивалент третичного основания, раствором фосгена (XIII) в толуоле при 0° выделяется двуокись углерода и образуется симметричный ангидрид карбоновой кислоты (XV) [741]:

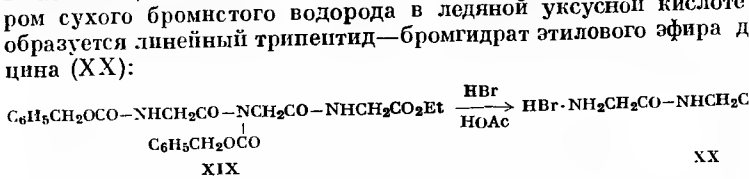


Получение ангидрида (XV) может быть объяснено первоначальным образованием двойного смешанного ангидрида карбоновой и угольной кислот (XIV), который легко подвергается диспропорционированию. Аналогичная реакция имеет место в случае использования вместо фосгена хлористого тионила (XVI) [741]:



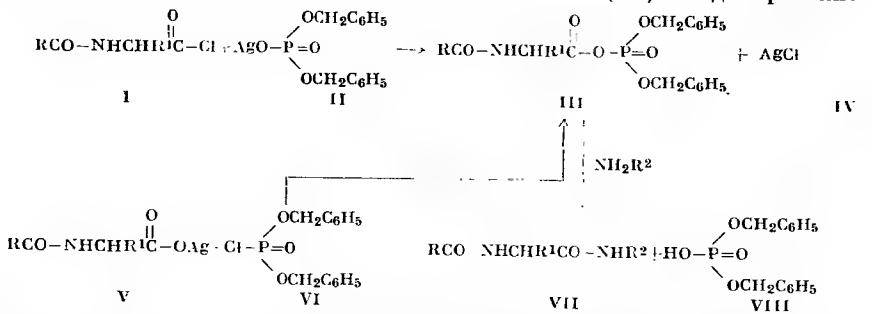
Хотя любой из описанных выше методов может быть применен для получения симметричных ангидридов карбоновых кислот, почти не содержащих примесей, такие промежуточные соединения не имеют большой практической ценности для синтеза пептидов по причинам, указанным ранее.

Копп и Реник [742а] в 1958 г. показали, что конденсация карбобензоксиглицина с этиловым эфиром глицина методом смешанных ангидридов с помощью этилхлоркарбоната в смеси толуола с хлороформом при —5° приводит к образованию значительных количеств N-ациламида. Этому побочному продукту реакции (т. пл. 131,5—132°) может быть приписано строение XIX, в частности, на том основании, что при его декарбобензоксилировании раствором сухого бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте (раздел 46) образуется линейный трипептид—бромгидрат этилового эфира диглицилглицина (XX):



Эта реакция аналогична образованию N-ациламидов, которое наблюдали двумя годами раньше Виланд и Хейнке [769] при обработке раствора карбобензоксиглицина в тетрагидрофуране третичным основанием и хлорокисью фосфора при —15° (раздел 34). Следует ожидать, однако, что образование N-ациламидов в подобных реакциях не будет происходить, если соответствующие реагенты вместо глицина содержат остатки других аминокислот, поскольку пространственный эффект боковых цепей аминокислот, вероятно, затрудняет процесс ацилирования амидов.

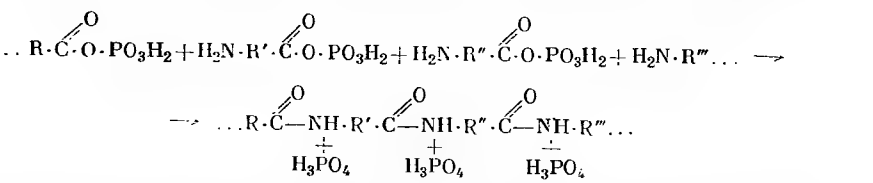
30. Ангидриды фосфорной кислоты и амино- или ациламинокислот. *Принцип.* При взаимодействии хлорангидрида ациламинокислоты (I) с дибензилфосфатом серебра (II) в инертном органическом растворителе образуется соответствующий дибензилфосфат ациламинокислоты (III) и одновременно



осаждается хлорид серебра (IV). Те же соединения получаются при действии дибензилхлорфосфата (VI) на серебряную соль ациламинокислоты (V). Обработка (III) аминокислотой в слабощелочном водном растворе или соответствующим амином в органическом растворителе приводит к нужному амиду (VII) и дибензилфосфату (VIII).

Общие соображения. В течение двух последних десятилетий проводились интенсивные поиски реакционноспособных промежуточных соединений, которые могли бы конденсироваться с образованием полипептидов и белков в условиях живой клетки. Как было отмечено Борсуком и Дубновым [743] в 1940 г., термодинамические расчеты требуют, чтобы биосинтез пептидной связи сопровождался процессом, приводящим к выделению энергии. В недавней дискуссии о роли в биосинтезе реакций конденсации, сопровождающихся выделением энергии, Липман [744] указывал, что образование пептидной связи может происходить через промежуточно образующиеся богатые энергией ацилфосфаты аминокислот:

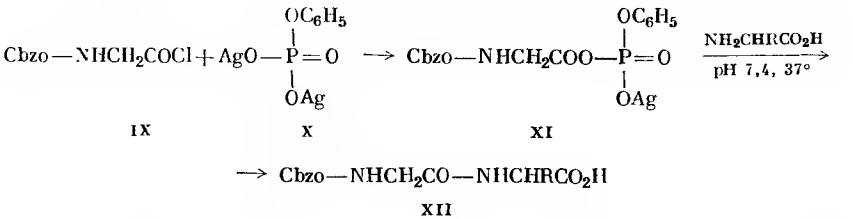
«Следует помнить, что образование смешанных ангидридов ацилфосфатов может легко происходить путем фосфорилирования аденилпирофосфатом [745]. Значительная часть составных частей протоплазмы представляет собой соединения, содержащие пептидные связи. Согласно методам, принятым в органической химии, для синтеза соединений этого типа сначала получают хлорангидрид карбоксильного компонента и затем вводят его в реакцию с аминогруппой другого компонента. Аналогичным образом в клетке может сначала образовываться ацилфосфат с помощью аденилпирофосфата как источника богатых энергией фосфатных групп. Ацилфосфаты аминокислот могут затем конденсироваться с аминогруппами других аминокислот, образуя белки. Таким образом, фосфорильные группы, постоянно генерируемые



в живой клетке, могут использоваться для синтезов, происходящих в протоплазме».

Предположение об участии аденозинтрифосфата в реакции трансфосфорилирования со свободными аминокислотами получило позднее известное подтверждение в работах по изучению биосинтеза *n*-аминогиппуровой кислоты [746], глутамина [747, 748], глутатиона [749] и др. Конечно, окончательным доказательством участия фосфорилированных аминокислот в биогенезе протеинов явилось бы их выделение из биосинтетических систем. Однако ввиду высокой реакционноспособности и чрезвычайно малой устойчивости этих соединений все попытки их выделения оказались неудачными.

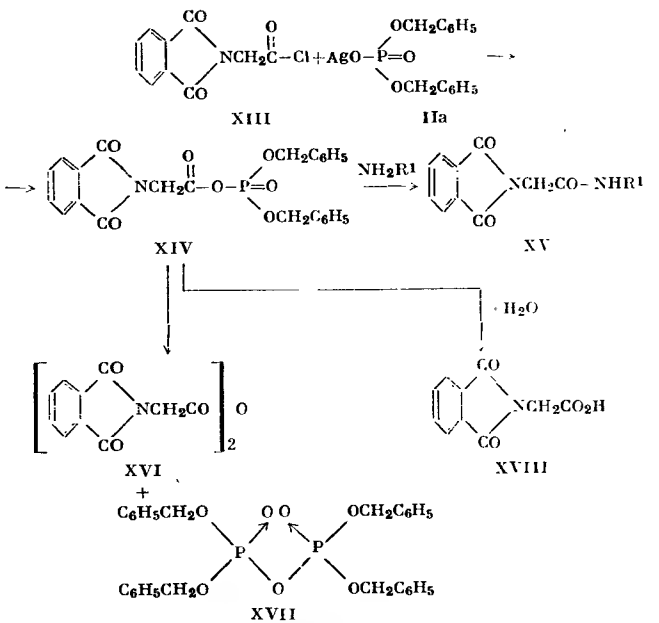
В связи с этим были предприняты исследования по химическому синтезу соединений, которые могли бы служить моделями постулированных биосинтетических «богатых энергией» фосфатов. Так, Шантрен [750, 751] показал, что ацилфосфаты или фосфаты ациламинокислот, в которых остаток фосфорной кислоты участвует в образовании сложноэфирной связи, легко реагируют в физиологических условиях (pH и температура) с аминогруппой свободной аминокислоты с образованием соответствующих ациламинокислот или пептидов. Это может быть проиллюстрировано следующей схемой [751]:



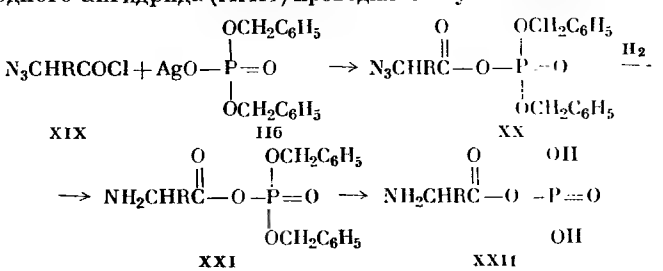
Как легко видеть, реакция хлорангидрида карбобензоксиглицина (IX) с двухзамещенным фенилфосфатом серебра (X) приводит к «богатой энергией» серебряной соли карбобензоксиглицилфенилфосфата (XI), которая в свою очередь легко реагирует с водными растворами аминокислот при 37° и pH 7,4 с образованием соответствующих карбобензоксидипептидов (XII). Таким образом были получены карбобензоксипроизводные глицилглицина, глицилтирозина и глицилглицилтирозина.

Вскоре после появления первых работ Шантрена [750, 751] Шихан и Франк [752] описали синтез дибензилфосфата глицина в виде его N-фталил- (XIV) и N-карбобензоксипроизводных (III, $R = C_6H_5CH_2O$-, $R^1 = H$). Получение первого соединения проводилось путем взаимодействия суспензии серебряной соли дибензилфосфата (IIa) с хлорангидридом фталилглицина (XIII) в бензольном растворе при комнатной температуре. Аналогично, вместо (XIII) можно использовать хлорангидрид карбобензоксиглицина. О весьма высокой неустойчивости полученных таким образом дибензилфосфатов ациламинокислот свидетельствует тот факт, что перекристаллизация дибензилфосфата фталилглицина (XIV) из бензола сопровождается легко протекающим диспропорционированием с образованием симметричного ангидрида фталилглицина (XVI), т. пл. 240—241°, и тетрабензилпирофосфата (XVII). Такое же разложение (XIV) наблюдается при продолжительном хранении; оно также индуцируется небольшими количествами триэтиламина. Реакция XIV с водным диоксаном приводит к его гидролизу до ациламинокислоты (XVIII), в то время как при взаимодействии XIV с анилином или бензиламином в смеси диоксана с бензолом, или с глицином или DL-фенилаланином в водном растворе при pH 7,4 образуются соответствующие амид

или дипептид (XV).



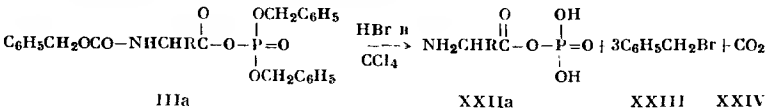
Метод, аналогичный описанному Шиханом и Франком, был использован Бентлером и Неттером [753] для получения свободных смешанных ангидридов (XXI) дибензилфосфорной кислоты с глицином (т. пл. 62°), DL-аланином (масло) и DL-фенилаланином (т. пл. 104—106°). Так, реакция хлорангидрида α-азидокислоты (XIX) с дибензилфосфатом серебра (IIб) привела к соответствующему продукту конденсации (XX), который при гидрогенолизе над скелетным никелем восстанавливался до дибензилфосфата аминокислоты (XXI). Дебензилирование последнего до соответствующего свободного ангидрида (XXII) проводилось путем восстановления в при-



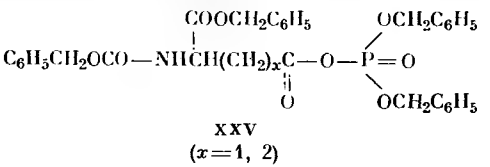
сутствии палладиевого катализатора, однако свойства полученных соединений не описаны.

Другой метод синтеза свободных смешанных ангидридов фосфорной кислоты и аминокислот был описан Качальским и Пехтом [754, 755]. По этому методу серебряная соль карбобензоксиаминокислоты (V; R = $C_6H_5CH_2O$-) вводилась в конденсацию с дибензилхлорфосфатом (VI) в сухом четыреххлористом углероде при комнатной температуре с образованием дибензилфосфата

карбобензоксиаминокислоты (IIIа). Обработка продукта реакции (IIIа) сухим бромистым водородом в четыреххлористом углероде привела к отщеплению карбобензокси- и бензильных групп; при этом образовался нужный фосфат аминокислоты (XXIIа), бромистый бензил (XXIII) и двуокись углерода (XXIV):

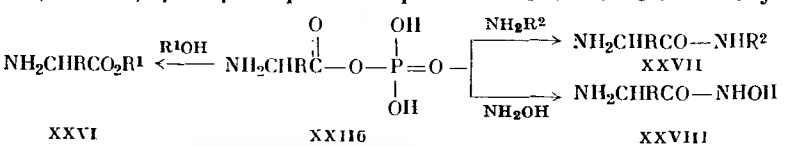


В сущности, такой же метод был применен для получения свободных смешанных ангидридов фосфорной кислоты и глицина, аланина и лейцина. Кроме того, аналогичным путем были получены β- и γ-фосфаты L-аспарагиновой и L-глутаминовой кислот, исходя из ω-дибензилфосфатов α-бензиловых эфиров соответствующих карбобензоксиаминокислот (XXV), например:

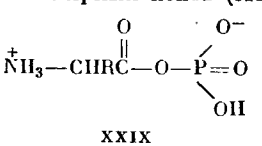


Свободные смешанные ангидриды были получены при этом в виде прозрачных, тяжелых, в высшей степени гигроскопичных масел 70—90%-ной чистоты. Вследствие чрезвычайно высокой лабильности этих соединений попытки дальнейшей очистки привели лишь к их разложению.

Описанные Качальским и Пехтом [755] свойства этих соединений представляют большой интерес с точки зрения постулированной биологической роли фосфатов аминокислот [744]. Так, эти соединения спонтанно реагируют со спиртами с образованием сложных эфиров (XXVI), с аминами с образованием амидов (XXVII) и с гидроксиламином с образованием гидроксамовых кислот (XXVIII). β- и γ-Фосфаты аспарагиновой и соответственно глутами-



новой кислот реагируют с водным раствором аммиака с образованием аспарагина и глутамина. Поскольку фосфатная группировка обладает сильными кислотными свойствами, было высказано предположение, что фосфаты аминокислот существуют в виде биполярных ионов (XXIX), например:



Эти вещества фосфорилируют адениловую кислоту в водном растворе до аденозиндифосфата. Хотя смешанные ангидриды фосфорной кислоты и двухосновных аминокислот не проявляют склонности к полимеризации, аналогичные производные обычных аминокислот в водном растворе при комнатной температуре и нейтральном значении pH не только гидролизуются, но, кроме

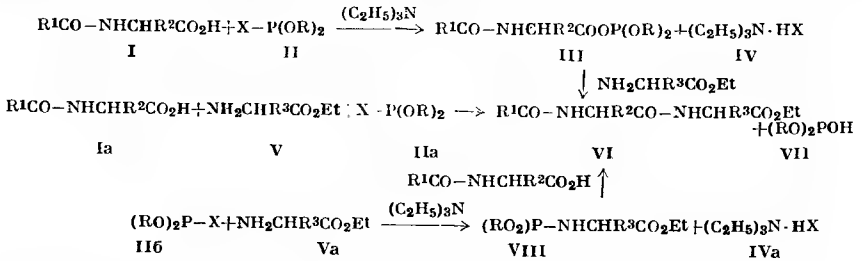
того, легко конденсируются с образованием полипептидов. Во всяком случае, очевидно, что чрезвычайно высокая лабильность и реакционная способность фосфатов аминокислот препятствуют их выделению из биологических источников, если эти вещества действительно являются промежуточными соединениями в синтезе полипептидов.

Смешанные ангидриды фосфорной и ациламинокислот обычно не применяются для синтеза пептидов, поскольку существует ряд более удобных методов. Эти соединения важны, однако, для получения модельных «богатых энергией» фосфатов аминокислот. Приведенная ниже методика получения фосфата лейцина (методика 72) может быть применена с соответствующими изменениями для синтеза фосфатов других аминокислот.

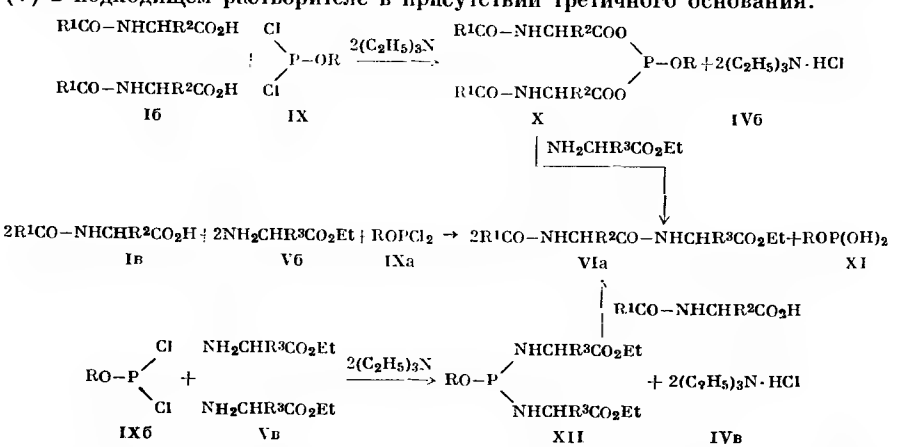
Типичная методика 72 [756]. Дибензилхлорфосфат. К охлажденному льдом раствору 137,5 *г* (1 моль) треххлористого фосфора в 750 *мл* сухого бензола добавляют по каплям в течение 2 *час* при непрерывном перемешивании раствор 216 *г* (2 моля) бензилового спирта в 242 *г* (2 моля) диметиланилина. Реакционную смесь перемешивают еще 30 *мин*, добавляют к ней в течение 20 *мин* 108 *г* (1 моль) бензилового спирта и оставляют на ночь при комнатной температуре. Для растворения выпавшего хлоргидрата диметиланилина добавляют 500 *мл* воды, бензольный слой отделяют, промывают водой (2× 500 *мл*), 5 н. водным аммиаком (2 × 500 *мл*) и водой (2 × 500 *мл*), высушивают безводным сульфатом натрия и упаривают при пониженном давлении. Остаток — 190 *г* светло-желтого масла — медленно перегоняют порциями по 40—50 *г* при 10^{-3} *мм* из колбы, снабженной «воротником». Бесцветный дибензилфосфит собирают при 110—120°; n_D^{25} 1,5521; выход 149 *г*. К охлажденному до —15° раствору 8,6 *г* дибензилфосфита в 44 *мл* сухого четыреххлористого углерода добавляют по каплям при перемешивании и температуре не выше —10° 48,4 *мл* 1,4 н. раствора хлора в четыреххлористом углероде. Для удаления избытка хлора и хлористого водорода через раствор пропускают в течение 30 *мин* ток сухого азота. Полученный таким образом раствор дибензилхлорфосфата в четыреххлористом углероде непосредственно используют далее, не выделяя продукт реакции в чистом виде.

Фосфат L-лейцина [755]. К 2 *М* водному раствору натриевой соли карбобензокси-L-лейцина (методика 29), не содержащему избытка едкого натра, медленно добавляют раствор эквимолекулярного количества азотнокислого серебра. Выпавшую серебряную соль карбобензоксилейцина промывают дистиллированной водой, экстрагируют эфиром и затем высушивают в темноте до постоянного веса. 12 *г* этой соли добавляют к полученному ранее раствору дибензилхлорфосфата в четыреххлористом углероде и реакционную смесь перемешивают током сухого азота при комнатной температуре в течение 2 *час*. Смесь оставляют на ночь, хлористое серебро и избыток серебряной соли карбобензоксилейцина отфильтровывают, а четыреххлористый углерод отгоняют в вакууме. Остаток (вязкое масло) представляет собой дибензилфосфат карбобензоксилейцина. Для получения свободного фосфата лейцина через 10%-ный раствор дибензилфосфата карбобензоксилейцина в безводном четыреххлористом углероде пропускают ток сухого бромистого водорода. Эта реакция сопровождается повышением температуры. Когда раствор становится насыщенным бромистым водородом (приблизительно через 20 *мин*), фосфат лейцина осаждается в виде тяжелого масла, которое тщательно промывают эфиром; следы растворителя удаляют в вакууме диффузионного насоса при комнатной температуре. Хотя этот метод и не позволяет полностью удалить побочный продукт реакции (бромистый бензил), однако более жесткая обработка приводит к разложению фосфата лейцина. Аналогичный метод был использован для получения фосфатов глицина и аланина [754], а также β- и γ-фосфатов L-аспарагиновой и L-глутаминовой кислот соответственно [755].

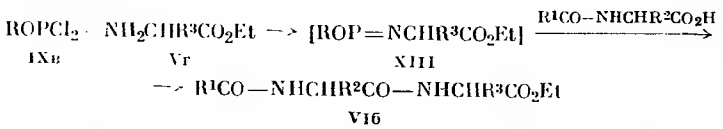
31. Методы синтеза пептидов с использованием в качестве промежуточных соединений замещенных сложных эфиров фосфористой кислоты. *Принцип.* Соответствующим образом защищенный хлорфосфит (II; X = Cl) или пирофосфит (II; X = $(RO)_2P$ — O —) в инертном растворителе, содержащем третичное основание, например триэтиламин, может реагировать или с ациламинокислотой (I) с образованием соответствующего смешанного ангидрида карбоновой и фосфористой кислот (III), или с эфиром аминокислоты (Va) с образованием соответствующего фосфитамида (VIII). Реакция первого промежуточного соединения (III) с эфиром аминокислоты или второго соединения (VIII) с ациламинокислотой приводит к образованию эфира соответствующего ацилдипептида (VI). Поскольку хлорфосфит или пирофосфит при реакциях конденсации могут активировать как аминогруппу, так и карбоксильную группу, к аналогичному результату приводит и прямое добавление этого реагента (IIa) к смеси ациламинокислоты (Ia) и эфира аминокислоты (V) в подходящем растворителе в присутствии третичного основания.



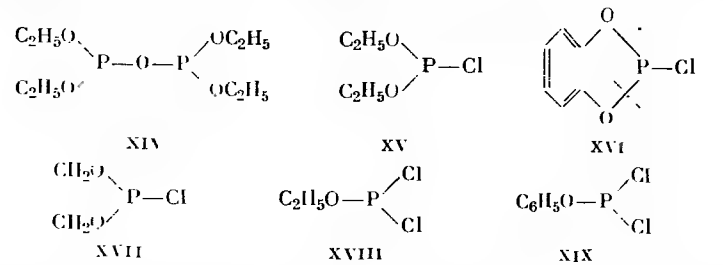
Точно таким же образом, как и монохлорфосфиты, для синтеза пептидов могут быть использованы дихлорфосфиты (IX). Поскольку последние содержат 2 реакционноспособных атома хлора, 1 моль (IX) может реагировать или с 2 молями ациламинокислоты (Iб) с образованием смешанного ангидрида (X), или с двумя молями эфира аминокислоты (Vв) с образованием фосфитамида (XII). Последующая реакция первого соединения (X) с эфиром



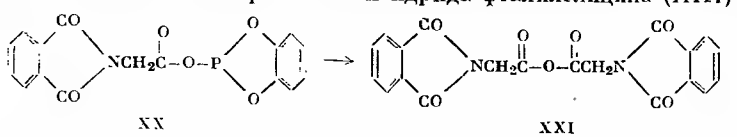
аминокислоты или второго (XII) — с ациламинокислотой приводит к соответствующему эфиру ацилдипептида (VIа). Как и в случае монохлорфосфитов, нужное производное пептида (VIа) может быть получено непосредственно добавлением дихлорфосфита (IXа) к раствору ациламинокислоты (Iв), аминоэфира (Vб) и третичного основания в инертном растворителе. Если модифицировать описанный выше метод, взяв дихлорфосфит (IXв) и эфир аминокислоты (Vг) в соотношении 1 : 1, реакция приводит к образованию «фосфитимида» (XIII), который в свою очередь легко конденсируется с ациламинокислотой, как было описано выше.



Общие соображения. Работами Андерсона и сотрудников [697, 722, 757, 758] было показано, что тетраэтилпирофосфит (XIV), диалкилхлорфосфиты, такие, как диэтилхлорфосфит (XV), *о*-фениленхлорфосфит (XVI) или этиленхлорфосфит (XVII), или моноалкилдихлорфосфиты, такие, как этилдихлорфосфит (XVIII), также могут быть использованы в качестве реагентов для создания пептидной связи. Так, взаимодействие этих реагентов или с амино-



группой, или с карбоксильной группой приводит к образованию реакционноспособных фосфитамидов или смешанных ангидридов карбоновой и алкилфосфористой кислот соответственно, которые в свою очередь могут реагировать с другой функциональной группой. Гольдшмидтом и Обермейером [759] независимо было показано, что для этих целей могут быть применены этилдихлорфосфит (XVIII) и фенилдихлорфосфит (XIX). Использование реагентов такого типа особенно удобно в том отношении, что их можно добавлять непосредственно к смеси карбоновой кислоты и амина в подходящем растворителе без предварительного получения фосфитамида или смешанного ангидрида. Смешанные ангидриды карбоновых и алкилфосфористых кислот могут легко диспропорционироваться; на это указывает тот факт, что при стоянии в течение 2 *суток* при 30° из бензольного раствора смешанного ангидрида (XX), полученного из *о*-фениленхлорфосфита и фталилглицина, выпадает около 20% симметричного ангидрида фталилглицина (XXI) [697].



Напротив, фосфитамиды представляют собой устойчивые, хотя и некристаллизующиеся соединения, которые могут храниться на холоду в течение нескольких месяцев без какого-либо изменения внешнего вида или реакционной способности [757]. Однако, поскольку эти соединения легко разлагаются водой, хранить их следует в отсутствие влаги.

Экспериментальные условия. Для синтеза пептидов через производные алкилфосфористых кислот наилучшим реагентом является тетраэтилпирофосфит (XIV), поскольку он может быть получен в чистом виде путем перегонки и его чистоту можно периодически проверять измерением показателя преломления; такими свойствами не обладают алкилхлорфосфиты [722]. Получение нужного производного пептида наиболее легко осуществить путем добавления одного эквивалента соответствующего алкилфосфита к раствору ациламинокислоты (или пептида), эфира аминокислоты (или эфира пептида) и триэтиламина (взятых в эквивалентных количествах) в сухом инертном растворителе (методика 74). Обычно для окончания реакции достаточно 15—30 *мин* нагревания на паровой бане, хотя в некоторых случаях может быть желательным более длительное нагревание. По другому методу сначала получают или смешанный ангидрид карбоновой и алкилфосфористой кислот путем взаимодействия ациламинокислоты, алкилфосфита и триэтиламина в инертном растворителе при температуре ниже 25° (методика 75), или фосфитамид путем добавления алкилфосфита к раствору аминокомпонента в подходящем растворителе, содержащем триэтиламин в количестве, достаточном для нейтрализации всего хлористого водорода, присутствующего или образующегося в реакционной смеси (температура иногда поддерживается ниже 25° с помощью внешнего охлаждения) (методика 73). Добавление соответствующего аминного компонента к первому промежуточному соединению или карбоксильного компонента ко второму с последующим нагреванием на паровой бане, как было описано выше, приводит затем к нужному производному пептида. Поскольку промежуточные соединения легко разлагаются водой, следует работать в отсутствие влаги и применять лишь сухие растворители. Наиболее подходящими для этой цели оказались бензол и толуол, в то время как применение некоторых других растворителей, например диоксана или хлороформа, приводит к уменьшению общего выхода [722]; отмечалось, что особенно высокие выходы получаются при применении в качестве растворителя безводного пиридина [759а]. Использование при синтезе пептидов в качестве растворителя диэтилфосфита имеет определенные преимущества не только потому, что он особенно эффективен в случае плохорастворимых высших пептидов, но также потому, что он смешивается как с водой, так и с обычными органическими растворителями; это дает возможность осадить продукт реакции добавлением того или другого растворителя [722]. В качестве растворителя были использованы также триалкилфосфиты, например триметил-, триэтил- и триаллилфосфиты [758]. Поскольку эти растворители (XXII) реагируют с галогенводородами (XXIII) с образованием инертных галогеналкилов (XXV) и диалкилфосфитов (XXIV), очевидно, что в этом слу-

чае не требуется добавлять органическое основание для нейтрализации галогеноводорода, выделяющегося в процессе образования пептида.

Типичная методика 73 [760]. Диэтилхлорфосфит. В трехгорлую колбу объемом 1 *л*, снабженную мешалкой с каучуковым затвором, капельной воронкой, термометром и отводом с хлоркальциевой трубкой и охлаждаемую в бане со льдом, помещают раствор 87 *мл* (1 моль) треххлористого фосфора в 200 *мл* сухого эфира. К смеси в течение 1 *час* добавляют по каплям

при температуре ниже 25° раствор 117 *мл* (2 моля) сухого этанола и 253 *мл* (2 моля) диметиланилина в 200 *мл* сухого эфира. Смесь перемешивают при комнатной температуре еще в течение 30 *мин*, фильтруют, и зернистый осадок хлоргидрата диметиланилина трижды промывают сухим эфиром (порциями по 100 *мл*). Растворитель от объединенного фильтрата отгоняют на водяной бане с использованием короткого дефлегматора, выход 131,5 *г*. Фракционирование продукта реакции проводят в атмосфере азота, собирая фракцию с т. кип. 40—50° (11 *мм*). Таким образом получают 80,9 *г* (52%) диэтилхлорфосфита, который, хотя и не является вполне чистым, пригоден для использования в последующих синтезах. Степень чистоты определяют по содержанию хлора, считая, что весь хлор образуется из диэтилхлорфосфита.

Бензиловый эфир карбобензокси-L-аспарагинилглицина [482]. Суспензию 10,1 *г* (0,05 моля) хлоргидрата бензилового эфира глицина (методики 52, 54 и 57) в 300 *мл* абсолютного эфира встряхивают в течение часа с 10,1 *г* (0,1 моля) триэтиламина в 50 *мл* абсолютного эфира; затем добавляют раствор 7,83 *г* (0,05 моля) диэтилхлорфосфита в 50 *мл* абсолютного эфира и смесь периодически встряхивают в течение 1 *час*. Смесь оставляют на 18 *час* при 0—5°, фильтруют, упаривают в вакууме, оставшееся масло растворяют в 250 *мл* сухого толуола и к раствору добавляют 13,3 *г* (0,05 моля) карбобензокси-L-аспарагина (методика 30). Смесь кипятят с обратным холодильником до растворения (1 *час*); после ее охлаждения выпадает обильный желатинообразный осадок. Его отфильтровывают, промывают небольшими количествами толуола и эфира и перекристаллизовывают из большого объема кипящей воды; выход 10 *г* (50%); т. пл. 181—183°.

Типичная методика 74 [722]. Тетраэтилпирофосфит. К охлажденному до 0° раствору 138 *г* (1 моль) диэтилфосфита и 101 *г* (1 моль) свежеперегнанного триэтиламина в 200 *мл* бензола при перемешивании быстро добавляют (10 *мин*) раствор 1 моля диэтилхлорфосфита (методика 73) в 200 *мл* бензола. Смесь выдерживают при 0° еще 15 *мин* и затем в атмосфере азота отфильтровывают хлоргидрат триэтиламина. Осадок промывают 200 *мл* бензола и объединенный фильтрат и промывные воды фракционируют в вакууме; собирают фракцию, кипящую при 79—81° (0,15 *мм*), выход 41%; n_D^{26} 1,4313, d^{20} 1,053. Значение n_D^{26} 1,4313 взято как мера 100%-ной чистоты тетраэтилпирофосфита (для данной цели). Поскольку вода реагирует с тетраэтилпирофосфитом с образованием диэтилфосфита, следующие показатели преломления смесей диэтилфосфита с тетраэтилпирофосфитом могут использоваться для приближенного определения степени чистоты реагента в любое данное время: N (молярная концентрация пирофосфита) 0,00, n_D^{26} 1,4050; N 0,21, n_D^{26} 1,4128; N 0,35, n_D^{26} 1,4160; N 0,52, n_D^{26} 1,4220; N 0,62, n_D^{26} 1,4235; N 0,68, n_D^{26} 1,4258; N 1,00, n_D^{26} 1,4314. Построенная по этим данным кривая показывает, что значению n_D^{26} 1,4300 отвечает содержание пирофосфита 93% по весу. Следовательно, использование при синтезе пептидов 10%-ного по весу избытка пирофосфита обеспечивает необходимое количество этого реагента, если показатель преломления его n_D^{26} равен 1,4300 или выше.

Этиловый эфир карбобензокси-L-лейцил-L-тирозина [722]. К 7 *мл* (0,05 моля) диэтилфосфита добавляют 2,65 *г* (0,01 моля) карбобензокси-L-лейцина (методика 29), 1,11 *г* (0,011 моля) триэтиламина, 2,44 *г* (0,01 моля) хлоргидрата этилового эфира тирозина (методика 48) и 2,84 *г* (0,011 моля) тетраэтилпирофосфита. Смесь нагревают на паровой бане в течение 30 *мин*. Затем добавляют 25—50 *мл* воды, реакционную массу охлаждают ледяной водой, осадок отфильтровывают и промывают сначала 10—20 *мл* 5%-ного раствора бикарбоната натрия, а затем водой. Сырой продукт реакции высушивают и, наконец, перекристаллизовывают из смеси этилацетата с петролейным эфиром; выход 40%; т. пл. 112—114°; $[\alpha]_D^{24}$ — 14° (5%, в этаноле).

Типичная методика 75 [758]. Этилдихлорфосфит. К 360 *мл* (3,99 моля) треххлористого фосфора в течение 1 *час* добавляют при перемешивании и охлаждении в бане со льдом 167 *г* (3,63 моля) абсолютного спирта. В процессе прибавления выделяется хлористый водород (необходимо работать под тягой). Через несколько минут после окончания добавления смесь становится прозрачной; капельную воронку и отводную трубку заменяют осушительными трубками с драйеритом, смесь перемешивают 16 *час* при комнатной температуре и затем перегоняют в вакууме, собирая одну большую фракцию с т. кип. 40—50°. После повторной перегонки при атмосферном давлении (с использованием дефлегматора) получают этилдихлорфосфит с выходом около 42% теории. Показатель преломления при 25° колеблется от 1,4643 (вторая фракция, т. кип. 115—116°) до 1,4622 (третья фракция, т. кип. 117—118°).

Этиловый эфир фталилглицил-L-лейцина [758]. К раствору 2,05 *г* (0,01 моля) фталилглицина (методика 33) в 30 *мл* бензола, содержащему 1,01 *г* (0,01 моля) триэтиламина, добавляют 0,74 *г* (0,005 моля) этилдихлорфосфита в 10 *мл* бензола. Осадок хлоргидрата триэтиламина отфильтровывают, к фильтрату добавляют суспензию 1,94 *г* (0,01 моля) хлоргидрата этилового эфира L-лейцина (методика 48) в 25 *мл* бензола, содержащую 1,1 *г* (0,011 моля) триэтиламина, и реакционную смесь или кипятят с обратным холодильником в течение 15 *мин*, или оставляют на ночь при комнатной температуре. После окончания реакции смесь промывают 10 *мл* воды и 15 *мл* насыщенного раствора бикарбоната натрия. Бензольный раствор высушивают сульфатом натрия, упаривают в вакууме досуха и остаток перекристаллизовывают из 50%-ного этанола; выход 91%; т. пл. 143—144°; $[\alpha]_D^{25}$ — 29,0° (2%, в этаноле).

В связи с упомянутыми выше исследованиями интересно отметить, что, по данным некоторых авторов, образование производных пептидов (VIв) может происходить просто при нагревании ациламинокислоты (Iг) с эфиром аминокислоты (Vд) в инертном органическом растворителе, например в толуоле [757]:

$$\underset{\text{Iг}}{R^1CO{-}NHCHR^2CO_2H} + \underset{\text{Vд}}{NH_2CHR^3CO_2Et} \xrightarrow[\Delta]{\text{Толуол}} \underset{\text{VIв}}{R^1CO{-}NHCHR^2CO{-}NHCHR^3CO_2Et} + H_2O.$$

Конечно, скорость такой реакции значительно ниже, чем в случае применения алкилфосфитов как активирующих реагентов; эта реакция сопровождается, кроме того, образованием дикетопиперазина, получающегося при взаимодействии двух молекул эфира аминокислоты (методика 76). Этот метод, естественно, нельзя считать общим методом синтеза пептидов.

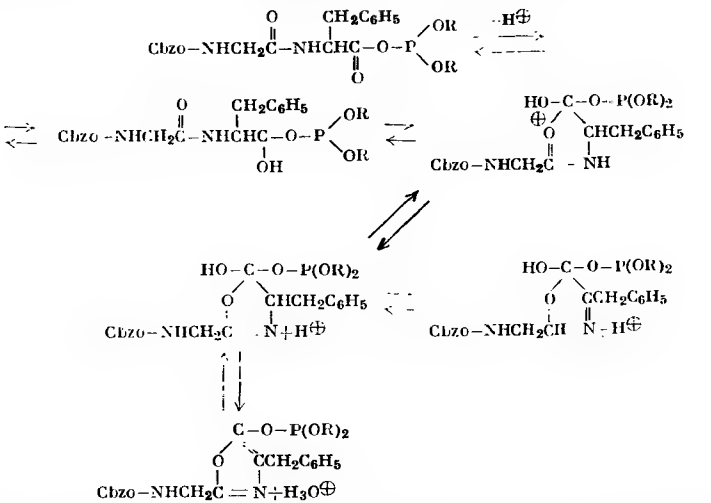
Типичная методика 76 [757]. Этиловый эфир карбобензоксиглицил-DL-фенилаланина. Раствор 4,18 *г* (0,02 моля) карбобензоксиглицина (методики 28 и 30) и 3,87 *г* (0,02 моля) этилового эфира DL-фенилаланина в 50 *мл* толуола кипятят с обратным холодильником в течение 1 *час*. Смесь охлаждают и выпавшие кристаллы ангидрида DL-фенилаланина (0,30 *г*) отфильтровывают. Фильтрат промывают сначала 25 *мл* 10%-ного раствора бикарбоната натрия, затем 10 *мл* воды и, наконец, упаривают при пониженном давлении; маслянистый остаток кристаллизуется из 40 *мл* 50%-ного спирта. Выход

этилового эфира карбобензоксиглицил-DL-фенилаланина 2,92 *г* (38%), т. пл. 87—89°. Если модифицировать эту методику, нагревая реакционную смесь в течение 2 *час*, то выход производного пептида увеличивается до 55%.

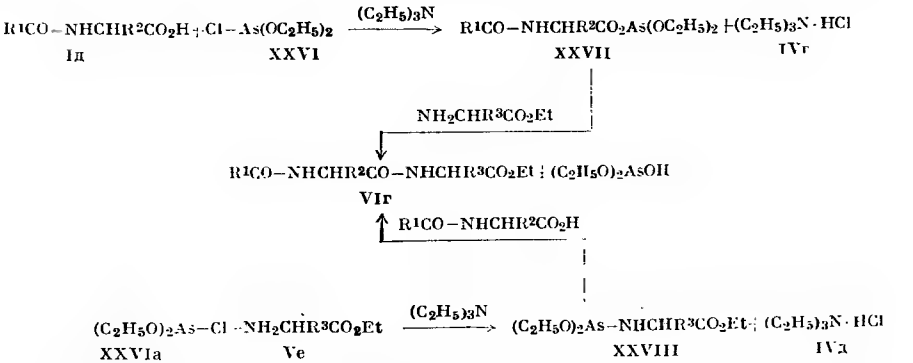
Область применения и ограничения. Хотя алкилхлорфосфиты и алкилпирофосфиты могут применяться для получения реакционноспособных фосфитамидов с последующей их конденсацией с карбоксильной группой, обычно лучшие выходы получаются в том случае, если процесс активирования проводится путем получения смешанного ангидрида карбоновой и алкилфосфористой кислот, или если реагент добавляется непосредственно к раствору, содержащему аминный и карбоксильный компоненты. Активации фосфитным реагентом должна предшествовать соответствующая защита реакционноспособных ω-амино-, ω-карбоксильных, гидроксильных или сульфгидрильных заместителей в боковых цепях остатков аминокислот. В этой связи следует отметить, что реакционная способность гуанидиновой группировки карбобензокси-L-аргинина подавляется одним эквивалентом бромистого водорода в такой степени, что позволяет вводить это соединение в конденсацию с метиловым эфиром L-лейцина в растворе диэтилфосфита в присутствии тетраэтилпирофосфита [471]. Фосфитные реагенты применялись также для синтеза пептидов аспарагина и глутамина [482, 672, 674]. В противоположность методу смешанных ангидридов карбоновых кислот (раздел 28) при синтезе пептидов через производные алкилфосфористых кислот пространственные препятствия, обусловленные наличием разветвления в β-положении остатка аминокислоты, не играют, по-видимому, существенной роли; так, при конденсации карбобензокси-DL-валина с этиловым эфиром глицина получается 82% этилового эфира карбобензокси-DL-валилглицина [697]. Применение производных алкилфосфористых кислот представляет собой удобный метод синтеза пептидов, получающихся обычно с хорошим выходом; этот метод может во всех отношениях заменять методы смешанных ангидридов карбоновых кислот и смешанных ангидридов карбоновых и алкилугольных кислот.

В случае применения в качестве одного из реагентов оптически активных карбобензокси- или фталиламинокислот образование производных пептидов через алкилфосфиты обычно не сопровождается рацемизацией [722]. Значительная рацемизация, однако, может иметь место в подобных реакциях с участием оптически активных ацетиламинокислот [681]. Как было показано на примере метода смешанных ангидридов карбоновых и алкилугольных кислот (раздел 29), на степень рацемизации и даже на наличие или отсутствие ее большое влияние может оказывать природа растворителя, применяемого в данной реакции. Так, например, при получении эфира карбобензокситрипептида из карбобензоксиглицил-L-фенилаланина и этилового эфира глицина в бензольном или толуольном растворах наблюдается лишь незначительная потеря оптической активности [697]. Однако если эту же самую реакцию проводить в диэтилфосфите или триметилфосфите в присутствии хлористого водорода (свободного или связанного в виде хлоргидрата), то в зависимости от условий образуется продукт реакции с различной степенью рацемизации [758]. По-видимому, рацемизация в данном случае происходит через промежуточное образование оксазолидиновой соли, которая легко разрушает асимметрию у α-углеродного атома (см. ниже). В тех же растворителях, но в отсутствие хлористого водорода рацемизации практически не происходит. В этой связи следует отметить, что потеря оптической активности не наблюдается в тех случаях, когда реакция проводится в инертном растворителе, например в бензоле или толуоле, к которому для полного удаления

из раствора неорганических кислот добавлен третичный амин (например, триэтиламин).



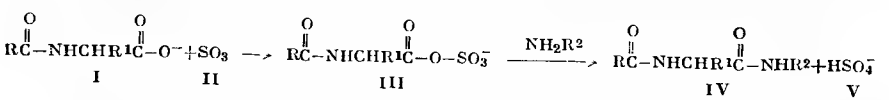
Родственные методы. В предварительном сообщении Вогана [761] было отмечено, что применение диэтилхлорарсенита (XXVI) вместо соответствующего фосфитного аналога также приводит к образованию реакционноспособных ангидридов (XXVII) и амидов (XXVIII), которые в свою очередь могут служить в качестве промежуточных веществ в синтезе пептидов.



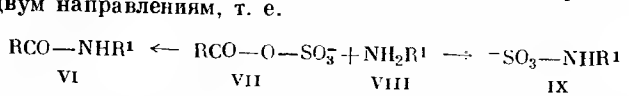
В этом случае условия реакции не отличаются от условий, применяемых при работе с фосфитными реагентами, и относительные выходы продукта реакции (VIг) обычно такие же, как и в случае фосфитного метода.

32. Метод смешанных ангидридов серной кислоты. *Принцип.* При добавлении одного эквивалента серного ангидрида (II) в диметилформамиде к раствору натриевой, калиевой или четвертичной аммониевой соли ациламинокислоты (I) образуется смешанный ангидрид (III) ациламинокислоты (или пептида) и серной кислоты. Обработка III натриевой или калиевой солью аминокислоты или пептида в водном растворе, или эфиром аминокислоты или пептида в инертном органическом растворителе в присутствии третичного амина

приводит к нужному производному пептида (IV); при этом образуется также бисульфат-ион (V).



Общие соображения. В 1952 г. Кеннером и Стедманом [712] было показано, что смешанные ангидриды ациламинокислоты (или пептида) и серной кислоты, т. е. ацилсульфаты, могут служить в качестве ацилирующих агентов для синтеза пептидов; эта работа была продолжена впоследствии Клейтоном, Фаррингтоном, Кеннером и Тернером [495]. Подобно тому как это было ранее описано в случае смешанных ангидридов карбоновых кислот (раздел 28), ацилсульфаты (VII) теоретически могут реагировать с амином (VIII) по двум направлениям, т. е.



Реакция идет преимущественно в направлении, приводящем к нужному производному пептида (VI), а не к сульфамату (IX). Однако в отличие от смешанных ангидридов карбоновых кислот ацилсульфаты не проявляют склонности к диспропорционированию. Несколько необычным свойством ацилсульфатов является способность их растворяться в воде, а также значительная устойчивость к гидролизу; с другой стороны, эти соединения значительно менее устойчивы к действию гидроксильных ионов. Это хорошо иллюстрируется зависимостью периода полураспада литиевой соли карбобензоксиглицилсульфата от величины pH [762]:

pH	6	7	8	9	10
Период полураспада, *час*	10,5	9,6	5,3	1,0	0,1

Экспериментальные условия. Ацилсульфаты обычно получают путем взаимодействия литиевой или калиевой соли ациламинокислоты с эквимолекулярным количеством серного ангидрида при 0° в отсутствие влаги. Трехокись серы в этом случае используется в виде ее координационного комплекса с диметилформамидом, который в свою очередь получают перегонкой трехокиси серы из олеума непосредственно в безводный диметилформамид при — 15° (методика 77); раствор такого комплекса устойчив при хранении в течение нескольких месяцев при — 40°, но медленно разлагается при 0°. Концентрация реагента легко определяется титрованием щелочью. Диметилформамид является удобным неводным растворителем для получения ангидридов, поскольку в нем легко растворяются ациламинокислоты и пептиды, которые затем легко могут быть переведены в их соли с щелочными металлами путем нейтрализации метанольной щелочью с последующей фракционной отгонкой части растворителя в вакууме при 50°. Конденсация смешанного ангидрида с соответствующим амином может проводиться как в водной среде, так и в неводном растворителе. В первом случае к удовлетворительным результатам приводит обычно добавление раствора ангидрида в диметилформамиде к холодному водному раствору аминокислоты или пептида, pH которого поддерживается около 6,8 с помощью тонкоизмельченного карбоната магния; в случае использования неводного растворителя раствор ацилсульфата добавляют к раствору хлоргидрата эфира аминокислоты или пептида в диметилформамиде в присутствии эквимолекулярного количества триэтиламина (методика 77).

Типичная методика 77 [495]. Комплекс трехокиси серы с диметилформамидом. 100 *мл* 60%-ного олеума нагревают при 110° в атмосфере азота с колонкой размером 2,5 × 15 *см*, наполненной стеклянной насадкой. Приемник охлаждают льдом и защищают от влаги воздуха трубкой с фосфорным ангидридом. Перегонку заканчивают после того, как в приемнике соберется около 30 *г* трехокиси серы; бо́льшую часть дистиллята перегоняют еще раз при слабом нагревании в сосуд, снабженный отводом для соединения с другой колбой. Затем этот сосуд немедленно присоединяют к трехгорлой колбе, снабженной мешалкой и хлоркальциевой трубкой и содержащей 85 *мл* безводного диметилформамида (высушенного азеотропной отгонкой с бензолом). Колбу охлаждают до —15° и, осторожно нагревая сосуд с трехокисью серы, перегоняют ее в колбу над поверхностью диметилформамида. Перегонку прекращают, когда на дне сосуда появляются маленькие маслянистые капли; таким образом в колбу вводят около 21 *г* трехокиси серы. Реакционную смесь затем оставляют на 2 *час* при температуре от —40 до —60° и желтый маточный раствор отделяют путем фильтрования через пористый стеклянный фильтр. Оставшиеся бесцветные кристаллы промывают 10 *мл* предварительно охлажденного диметилформамида и затем растворяют в 200 *мл* того же растворителя. Молярную концентрацию раствора определяют титрованием щелочью. Реагент заметно не изменяет своей активности при хранении в течение месяца при —40° в колбе, защищенной от влаги воздуха трубкой с пятиокисью фосфора; в этих же условиях при —5° наблюдается понижение активности приблизительно на 3%.

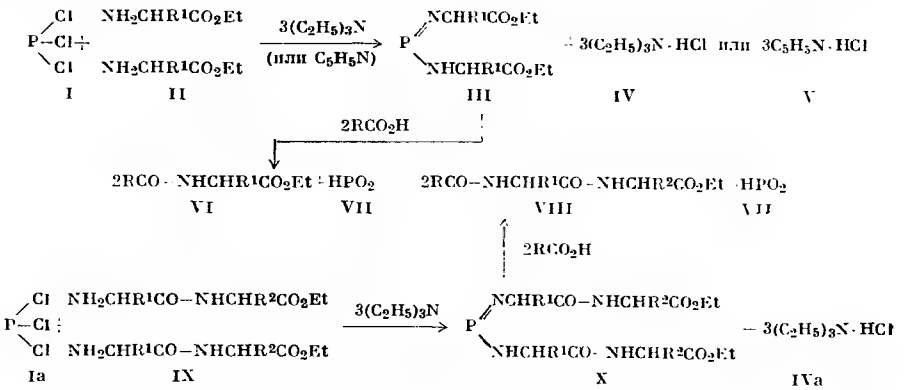
Этиловый эфир карбобензокси-L-фенилаланилглицина. Раствор 2 *ммолей* карбобензокси-L-фенилаланина (методики 28 и 30) в 30 *мл* диметилформамида нейтрализуют метанольным раствором едкого кали и смесь упаривают при 50° в вакууме (50 *мм*) с колонкой размером 2,5 × 15 *см*, наполненной стальной сеткой, до половины первоначального объема. К остатку при охлаждении до 0° добавляют раствор 2 *ммолей* комплекса трехокиси серы с диметилформамидом (см. выше) в диметилформамиде. Полученный таким образом смешанный ангидрид охлаждают в бане со льдом и к нему добавляют раствор 2 *ммолей* хлоргидрата этилового эфира глицина и 4 *ммолей* триэтиламина в диметилформамиде. Реакционную смесь оставляют на 1 *час* при 20°, добавляют немного воды и подкисляют 1 н. серной кислотой до pH 5. Раствор выпаривают в вакууме досуха, остаток встряхивают со смесью 30 *мл* этилацетата и 10 *мл* 3 н. серной кислоты, органический слой отделяют, а водный экстрагируют пять раз этилацетатом. Объединенные экстракты промывают трижды водой и трижды — 5%-ным раствором бикарбоната натрия, высушивают безводным сульфатом натрия и упаривают в вакууме. Оставшийся дипептид перекристаллизовывают из смеси этилацетата с петролейным эфиром; выход 83%; т. пл. 107,5—108,5°; $[\alpha]_D^{16}$ — 19,2° (4,1%, в этаноле).

Область применения и ограничения. В тех случаях, когда может быть использован метод смешанных ангидридов с серной кислотой, он представляет собой весьма эффективный метод ацилирования аминов как в водных, так и в неводных системах. Так как побочные продукты этой реакции — сульфамовые кислоты — легко отделяются экстракцией, нужное соединение обычно получается в весьма чистом виде. Как и в случае рассмотренных ранее методов смешанных ангидридов других типов, метод смешанных ангидридов с серной кислотой требует защиты реакционноспособных ω-амино-, ω-карбоксильных, гидроксильных и сульфгидрильных групп в боковых цепях остатков аминокислот перед получением ангидрида. Рекомендуется применять лишь соли ациламинокислот или пептидов с щелочными металлами, посколь-

ку способность триэтиламина реагировать с трехокисью серы препятствует его использованию. Это представляет некоторое неудобство по сравнению с рассмотренными ранее другими методами смешанных ангидридов, так как получение солей со щелочными металлами — более трудоемкая операция, чем получение соответствующих триэтиламмониевых солей.

Особым достоинством метода смешанных ангидридов с серной кислотой является практически полное сохранение оптической активности производных пептидов, полученных в безводном диметилформамиде. Так, например, при конденсации ангидридов карбобензоксиглицил-L-фенилаланина, а также карбобензоксиглицил-L-аланина и серной кислоты с этиловыми эфирами глицина и L-фенилаланилглицина образуются соответственно производные три- и тетрапептида, в которых не удалось обнаружить примеси рацемического соединения [495]. В связи с этим следует отметить, что эта же самая реакция, если ее проводить в водном растворе при pH 8, сопровождается заметной рацемизацией. Однако если реакции такого типа проводятся при pH ниже 6,8 (что достигается добавлением тонкоизмельченного карбоната магния), то рацемизации практически не происходит. Таким образом, хотя указанный метод может в ряде случаев оказаться полезным при ацилировании аминокислот и пептидов в водных растворах, поскольку при этом уменьшается опасность рацемизации, тем не менее эта опасность значительно выше, чем в случае применения безводного диметилформамида.

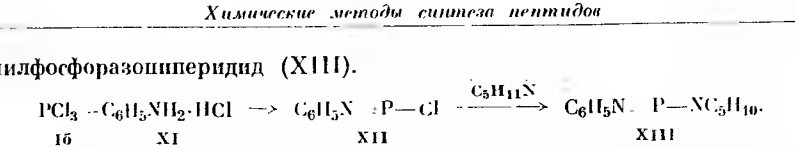
33. Фосфоразо-метод. *Принцип.* При добавлении треххлористого фосфора (I) к раствору какого-либо амина, например эфира аминокислоты (II) или эфира пептида (IX), и триэтиламина в неполярном растворителе, например толуоле, образуются соответствующее фосфоразопроизводное (III или X) и хлоргидрат триэтиламина (IV). В качестве растворителя можно использовать сухой пиридин; в этом случае отпадает необходимость добавления



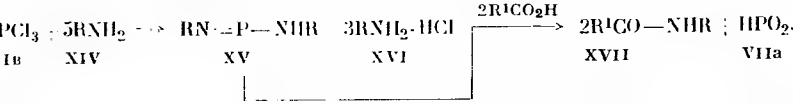
третичного амина. Последующая обработка фосфоразосоединения (III или X) карбоновой кислотой, например ациламинокислотой или ацилпептидом, приводит к нужному производному пептида (VI или VIII), причем одновременно образуется метафосфорная кислота (VII).

Общие соображения. Ароматические фосфоразосоединения впервые были описаны в 1894 г. Михаэлисом и Шрётером [763]; при действии треххлористого фосфора (Iб) на хлоргидрат анилина (XI) с последующей обработкой образовавшегося фенилфосфоразохлорида (XII) пиперидином был получен

фенилфосфоразопиперидид (XIII).

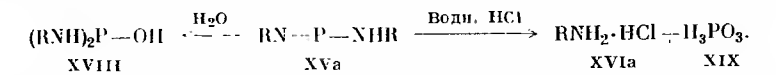


Аналогично, обработка XII анилином привела к образованию фенилфосфоразоанилида $C_6H_5N = P—NHC_6H_5$. Однако все попытки подтвердить строение этих соединений данными элементарного анализа натолкнулись на значительные трудности, связанные с невозможностью очистки этих в высшей степени лабильных веществ путем перекристаллизации. Приблизительно через пятьдесят лет Гриммел, Гюнтер и Морган [764] показали, что фосфоразосоединения легко могут быть получены путем взаимодействия 5 молей первичного алифатического или ароматического амина (XIV) с 1 молем треххлористого фосфора (Iв) в толуольном растворе. Последующая обработка 1 моля образовавшегося фосфоразоамида (XV) двумя молями ароматической или алифатической карбоновой кислоты в кипящем толуоле привела к соот-

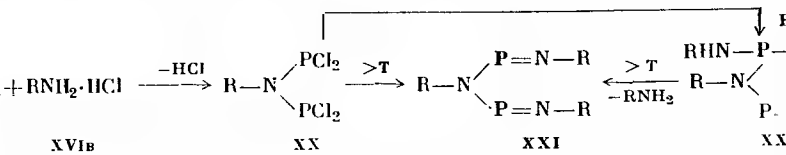


ветствующему замещенному амиду этой кислоты (XVII). Очевидно, что этот метод нельзя использовать для получения N-замещенных сульфамидов.

Здесь уместно вкратце описать более подробно некоторые свойства фосфоразоамидов. Так, хотя эти соединения медленно разлагаются при продолжительном освещении или нагревании (100° или выше), они вполне устойчивы при хранении в течение нескольких месяцев при комнатной температуре в темноте. В присутствии влаги фосфоразоамиды (XVa) переходят в так называемые «гидраты», которые на самом деле являются N-замещенными диамидами фосфорной кислоты (XVIII). В то время как фосфоразосоединения лишь медленно гидролизуются водой или разбавленными щелочами, при мягком нагревании с разбавленными минеральными кислотами гидролиз проходит очень быстро [764].

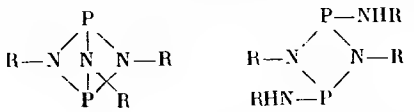


Строение фосфоразосоединений до настоящего времени полностью не выяснено. Хотя формально эти соединения напоминают диазоамиды, дальнейшая структурная аналогия требует признания существования истинной двойной связи между атомами фосфора и азота. В этой связи интересно упомянуть о работах Гольдшмидта и Краусса [765] по изучению соединений трехвалентного фосфора, образующихся при взаимодействии треххлористого фосфора с различными ароматическими аминами. Этими исследователями была установлена следующая последовательность реакций:



где каждое из образующихся соединений обладает различной термической устойчивостью. Так, в то время как соединения типа XX обычно имеют тем-

пературу плавления порядка 40°, вещества, строение которых изображено формулами XXI и XXII, разлагаются при температурах выше 300 и 200° соответственно. Последние два соединения представляют особый интерес, поскольку они могут, по-видимому, существовать не только в виде упомянутых выше линейных структур (XXI и XXII), но и в виде циклических

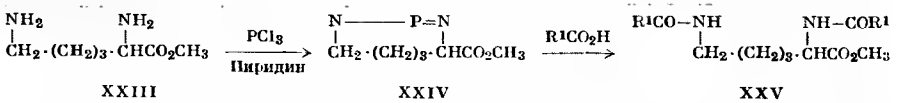


XXIa XXIIa

структур (XXIa и XXIIa). Выбор между структурами XXI и XXIa может быть сделан на основании изучения дипольных моментов, так как теоретически можно ожидать, что линейные молекулы первого соединения обладают значительным дипольным моментом, в то время как дипольный момент циклических молекул второго соединения практически равен нулю. Измерения показали, что соединение XXI, где $R = CH_3OC_6H_4$, обладает дипольным моментом, равным 2,03 ед. Дебая, что свидетельствует о наличии линейной структуры. Если же принять во внимание, что соединение XXI образуется при термическом разложении XXII, становится весьма вероятным, что фосфоразосоединения существуют в линейной форме [765]. Формула (XXII) подтверждается также результатами определения молекулярного веса фосфоразосоединений; при этом получаются значения, которые в два раза превышают величины, соответствующие эмпирическим формулам типа $RN = P - NHR^1$ [764].

В противоположность кристаллическим фосфоразосоединениям, содержащим остатки ароматических аминов, например анилина, аналогичные соединения, полученные из эфиров аминокислот или пептидов, обычно представляют собой вязкие масла, которые не проявляют склонности к кристаллизации. Ввиду легкости разложения фосфоразосоединений последнего типа очистка их весьма затруднительна. Это, однако, не имеет большого значения при использовании этих соединений в синтезе пептидов; так, Гольдшмидтом [766] совместно с Лаутеншлагером [723] и Ютцом [475, 767] показано, что при синтезе пептидов такие промежуточные фосфоразосоединения можно не выделять в свободном виде, а сразу вводить в конденсацию с ациламинокислотой или ацилированным пептидом. Хороший общий выход продукта реакции получается в том случае, если эфир аминокислоты (II) или эфир пептида (IX) и треххлористый фосфор (I) взяты в молярном соотношении 2 : 1. В этой связи следует отметить, что фосфоразосоединения могут иногда быть полезными в качестве промежуточных соединений при синтезе ациламинокислот. Так, например, ацилирование S-бензил-L-цистеина фенацетилхлоридом в щелочной среде до N-фенилацетил-S-бензилцистеина сопровождается частичной рацемизацией [476]. Напротив, реакция фенилуксусной кислоты с фосфоразопроизводным метилового эфира S-бензил-L-цистеина приводит с практически количественным выходом к оптически чистому метиловому эфиру N-фенилацетил-S-бензил-L-цистеина, который путем омыления может быть переведен в соответствующую свободную кислоту [723].

Выше уже указывалось, что фосфоразопроизводные эфиров аминокислот и пептидов, по-видимому, обладают линейной структурой типа XXII. Было высказано предположение, однако, что при реакции эфиров лизина (XXIII) с треххлористым фосфором образуется внутримолекулярное циклическое фосфоразосоединение (XXIV) [723]. Последующее взаимодействие этого промежуточного соединения с ациламинокислотой приводит к соответствующему α,ε-дизамещенному производному лизина (XXV):



XXIII XXIV XXV

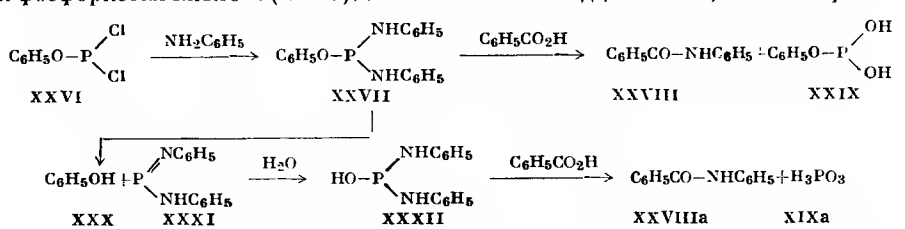
Экспериментальные условия. Реакционноспособные промежуточные фосфоразосоединения (III и X) можно получать путем взаимодействия 2 молей эфира аминокислоты (II) или эфира пептида (IX) с 1 молем треххлористого фосфора (I) в инертном растворителе, например в толуоле, содержащем 3 моля третичного основания для нейтрализации выделяющегося хлористого водорода. Обычно более целесообразно, однако, использовать в качестве растворителя для этой реакции пиридин, не только потому, что в среде этого растворителя реакция проходит легко, но также и потому, что в этом случае отпадает необходимость добавления третичного амина и при синтезе можно непосредственно использовать хлоргидраты эфиров аминокислот или пептидов. Необходимо использовать только тщательно высушенные растворители и защищать реакционную смесь от влаги воздуха. Обычно треххлористый фосфор добавляют к раствору амина при 0° и реакционную смесь оставляют затем на 15 *мин* при комнатной температуре; за это время образуется максимальное количество промежуточного фосфоразосоединения. Последнее не выделяют в свободном виде, а непосредственно конденсируют далее с ациламинокислотой или ацилпептидом; при этом образуется нужное производное пептида (VI и VIII). Реакция проходит полностью или при нагревании в течение 3 *час* на паровой бане (методика 78), или при стоянии в течение нескольких дней при комнатной температуре.

Типичная методика 78 [723]. Этиловый эфир карбобензоксиглицилглицина. 5 *г* тонкоизмельченного хлоргидрата этилового эфира глицина растворяют в 100 *мл* сухого пиридина при легком нагревании и раствор охлаждают до 0°. К затвердевшей массе при энергичном перемешивании добавляют раствор 1,6 *мл* треххлористого фосфора в 20 *мл* сухого пиридина. Реакционную смесь оставляют на 30 *мин* при комнатной температуре и к ней добавляют 7,5 *г* карбобензоксиглицина (методики 28 и 30). Смесь нагревают в течение 3 *час* на кипящей водяной бане или оставляют при комнатной температуре приблизительно на 60 *час*, упаривают в вакууме, к остатку добавляют немного воды и экстрагируют несколько раз этилацетатом. Объединенные этилацетатные экстракты промывают последовательно разбавленной соляной кислотой, водой, 10%-ным раствором бикарбоната натрия и снова водой, высушивают безводным сульфатом натрия, обесцвечивают активированным углем и, наконец, упаривают до небольшого объема. К остатку добавляют петролейный эфир, смесь оставляют на некоторое время на холоду и отфильтровывают выпавший этиловый эфир карбобензоксиглицилглицина; выход 9,1 *г*; т. пл. 82°.

Область применения и ограничения. Синтез пептидов через промежуточные фосфоразосоединения обычно проходит легко и с достаточно высокими выходами в том случае, если реакция проводится в среде безводного пиридина [765]. Применение этого растворителя имеет особые преимущества, поскольку при этом отпадает необходимость добавления третичного основания для нейтрализации хлористого водорода, выделяющегося при образовании фосфоразосоединения; кроме того, в этом случае можно непосредственно применять хлоргидраты эфиров аминокислот и пептидов без их предварительной нейтрализации. Перед обработкой треххлористым фосфором следует

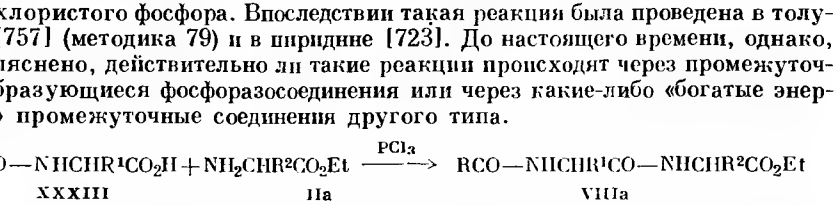
соответствующим образом защищать реакционноспособные группы боковых цепей эфиров аминокислот, например амино- или карбоксильные группы. Здесь следует упомянуть, что этот метод можно использовать для одновременного ацилирования обеих аминогрупп диаминокислот, например лизина [723]. Поскольку при получении пептида фосфоразосоединения реагируют с карбоксильной группой другого компонента, необходимо защищать одну из карбоксильных групп дикарбоновых кислот, например аспарагиновой или глутаминовой кислот; такая избирательная защита использовалась в синтезе большого числа как α-, так и γ-глутамилпептидов [475, 767]. Отмечалось, что при синтезе оптически активных производных пептидов по фосфоразометоду не происходит рацемизации [765—767]. Тенденция к рацемизации, однако, отсутствует не полностью; на это указывает тот факт, что при взаимодействии ацетил-L-лейцина с фосфоразопроизводным этилового эфира глицина образуется полностью рацемический этиловый эфир ацетилдейцилглицина [681]. Хотя позже [486] при использовании этого метода для синтеза ряда эфиров оптически активных карбобензоксидипептидов не было обнаружено заметной рацемизации, синтез эфиров карбобензоксиполипептидов в аналогичных условиях путем конденсации оптически активного карбобензоксипептида с эфиром аминокислоты сопровождался частичной рацемизацией, исключая те случаи, в которых С-концевой аминокислотой карбобензоксидипептида являлся остаток глицина или пролина.

Родственные методы. Выше уже рассматривался метод синтеза пептидов через реакционноспособные производные фосфитамидов, которые образуются при взаимодействии эфира дихлорфосфористой кислоты с соответствующим амином (раздел 31). Гольдшмидтом и Обермейером [759] было отмечено, что такая реакция может происходить не только описанным ранее путем, но также и через фосфоразосоединение, образующееся при разложении соответствующего фосфитамида. Указывалось, например, что действие анилина на фенилдихлорфосфит (XXVI) иногда приводит к реакционноспособному промежуточному соединению, являющемуся не фосфитамидом (XXVII), а фенилфосфоразоанилидом (XXXI). Наличие последнего соединения было доказано следующим образом: а) осторожная обработка маслообразного промежуточного соединения (XXXI) водой привела к кристаллическому веществу, которое, как показано, идентично «гидрату» фенилфосфоразоанилида (XXXII), полученному ранее Михаэлисом и Шрётером [763], и б) конечными продуктами реакции с бензойной кислотой как первого промежуточного соединения (XXXI), так и его гидрата (XXXII) являются фенол (XXX) и фосфористая кислота (XIXa), а также бензанилид (XXVIIIa). Если бы реак-



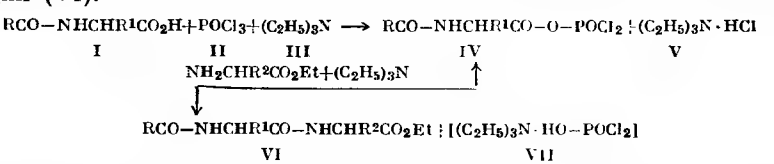
ция проходила через фосфитамид (XXVII), то вместо двух первых продуктов реакции должен был бы образоваться фенилфосфит (XXIX). Отсюда следует, что в некоторых условиях промежуточные соединения типа (XXVII) могут отщеплять спирт и переходить таким образом в фосфоразосоединения, которые далее обычным образом реагируют с карбоновыми кислотами.

Работами Зюса [768] в 1951 г. показано, что производные ацилпептидов (VIIIa) могут быть получены путем нагревания раствора ациламинокислоты (XXXIII) и эфира аминокислоты (IIa) в диоксане или бензоле в присутствии треххлористого фосфора. Впоследствии такая реакция была проведена в толуоле [757] (методика 79) и в пиридине [723]. До настоящего времени, однако, не выяснено, действительно ли такие реакции происходят через промежуточно образующиеся фосфоразосоединения или через какие-либо «богатые энергией» промежуточные соединения другого типа.



Типичная методика 79 [757]. Этиловый эфир карбобензоксиглицил-DL-фенилаланина. К раствору 0,03 моля хлоргидрата этилового эфира DL-фенилаланина (методика 48), 0,03 моля карбобензоксиглицина (методики 28 и 30) и 0,09 моля триэтиламина в 100 *мл* толуола добавляют 0,01 моля трехлористого фосфора. Реакционную смесь оставляют при комнатной температуре на 20 *мин*, кипятят 30 *мин* и затем промывают последовательно водой, 10%-ным раствором бикарбоната натрия, разбавленной соляной кислотой и, наконец, водой. После отгонки толуола в вакууме и последующей перекристаллизации остатка из водного спирта получают 5,98 *г* (52%) нужного продукта реакции; т. пл. 85—87°.

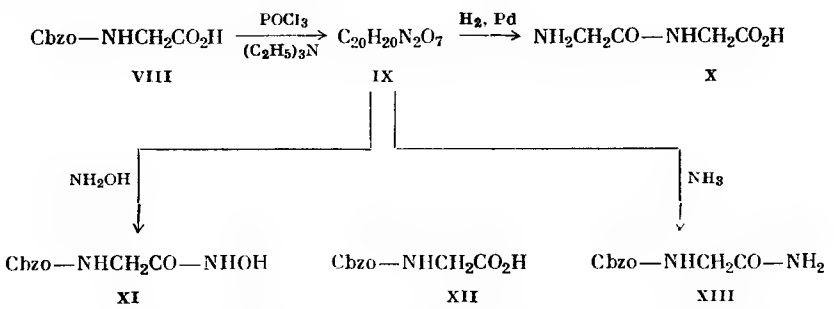
34. Метод с использованием хлорокиси фосфора. *Принцип.* Обработка охлажденного раствора эквимолекулярных количеств ацилированной аминокислоты или пептида, эфира аминокислоты или пептида и хлорокиси фосфора в сухом тетрагидрофуране двумя молями триэтиламина приводит к образованию пептида (VI). По-видимому, первой стадией этой реакции является взаимодействие карбоксильного компонента (I) с хлорангидридом (II), в результате которого образуется соответствующий смешанный ангидрид карбоновой и дихлорфосфорной кислот (IV). Действие последнего промежуточного соединения на аминокомпонент приводит затем к нужному продукту реакции (VI).



Общие соображения. В 1951 г. Виланд и Бернхард [741] предприняли исследования по разработке удобного метода синтеза пептидов через смешанные ангидриды, образующиеся при взаимодействии ациламинокислоты с хлористым тионилом, хлористым сульфурилом или хлорокисью фосфора в инертном органическом растворителе в присутствии третичного основания. Оказалось, что хотя такие смешанные ангидриды легко образуются при использовании в качестве растворителя сухого тетрагидрофурана и далее без выделения их в свободном виде вступают в конденсацию с натриевой солью глицина в водном растворе (при этом образуется нужное производное пептида), тем не менее во всех случаях выход выделенного продукта реакции не превышал 50% теории. По всей вероятности, низкие выходы продукта реакции обусловлены значительным разложением смешанного ангидрида вследствие диспропорционирования и гидролитического расщепления. В процессе развития этих исследований Виланд и Хейнке [769] попытались обойти

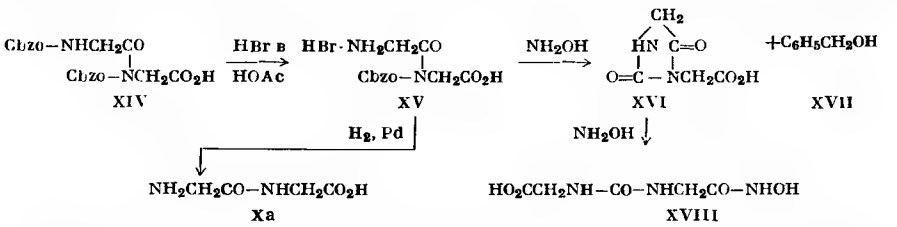
эти затруднения, объединив стадии образования смешанного ангидрида и получения пептида в одну операцию, а также проводя реакцию при низких температурах и в отсутствие влаги. Оказалось, что нужное производное пептида может быть получено путем обработки раствора ациламинокислоты, эфира аминокислоты и триэтиламина в сухом тетрагидрофуране при —15° соответствующим хлорангидридом. Хотя при применении в качестве хлорангидрида хлористого тионила выходы продукта реакции в лучшем случае составляли 50%, использование для этих целей хлорокиси фосфора позволило повысить выход до 70—80% для большинства исследованных пептидов. Лишь в случае конденсации карбобензоксиглицина с метиловым или этиловым эфиром глицина выходы соответствующих соединений были существенно ниже указанных значений; правда, путем некоторого изменения условий реакции удалось получить соответствующие соединения с хорошим выходом. Однако, поскольку изучение этих реакций привело к открытию ряда интересных превращений, представляется целесообразным вкратце их рассмотреть.

Обработка раствора карбобензоксиглицина (VIII) и триэтиламина в тетрагидрофуране хлорокисью фосфора при — 15° в отсутствие аминокомпонента приводит к образованию с выходом около 30% карбоновой кислоты пептидной природы, с эмпирической формулой $C_{20}H_{20}N_2O_7$, которая после перекристаллизации из водного метанола образует кристаллы с т. пл. 136—137°. Это соединение (IX) при каталитическом гидрогенолизе с количественным выходом превращается в глицилглицин (X), а его обработка гидроксиламином приводит к смеси гидроксамата карбобензоксиглицина (XI) и карбобензоксиглицина (XII); аналогично, при действии на это соединение аммиака (вместо гидроксиламина) образуются амид карбобензоксиглицина (XIII) и карбобензоксиглицин (XII):

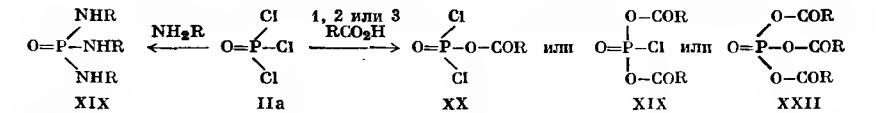


Эти данные позволили приписать неизвестному соединению (IX) строение NN′-дикарбобензоксиглицилглицина (XIV). Обработка этого соединения (XIV) раствором бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте приводит к отщеплению N-концевой карбобензоксигруппы, в результате чего образуется бромгидрат N′-карбобензоксиглицилглицина (XV), т. пл. 151—152° (с разложением). Отсюда следует, что связь карбобензоксигруппы с имидным атомом азота более прочна, чем связь с N-концевой аминогруппой. Интересно также отметить, что при каталитическом гидрогенолизе соединение XV превращается в глицилглицин (Xa), в то время как действие на него гидроксиламина приводит к моногидроксамату карбонил-*бис*-глицина (XVIII), образующегося, вероятно, через промежуточный гидантоин (XVI), который в свою очередь получается путем внутримолекулярной циклизации,

сопровождающейся отщеплением одной молекулы бензилового спирта (XVII).



То, что упомянутые выше реакции конденсации, осуществляемые с помощью хлорокиси фосфора, происходят путем активирования карбоксильного компонента с образованием смешанного ангидрида, а не путем активирования аминокомпонента через соответствующий замещенный триамид фосфорной кислоты (XIX), доказывается тем фактом, что как для получения последнего соединения, так и для его последующей конденсации с карбоксильным компонентом требуются весьма жесткие условия реакции. В связи с этим возникает вопрос, какой из трех смешанных ангидридов — монозамещенный (XX), дизамещенный (XXI) или тризамещенный (XXII) — образуется в указанной реакции в результате замещения в молекуле хлорокиси фосфора (IIa) одного, двух или трех атомов хлора соответственно. Здесь следует отметить, что для получения максимального выхода соответствующего производного пептида необходимо брать хлорокись фосфора и ациламинокислоту в молярном отношении 1 : 1; в том случае, если эти же самые реагенты взяты в молярном соотношении 0,3 : 1, продукт реакции



получается обычно с выходом лишь около 35%. Эти данные свидетельствуют о преобладающем участии в реакции монозамещенных смешанных ангидридов типа XX.

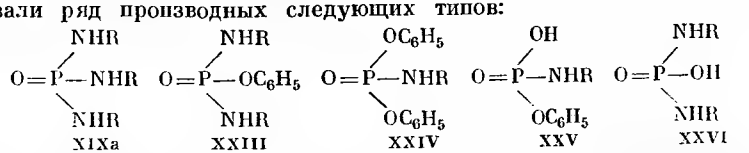
Экспериментальные условия. Получение производных пептидов с помощью хлорокиси фосфора проводят обычно по одному из следующих трех методов: а) к раствору эквимолекулярных количеств ациламинокислоты или ацилпептида и эфира аминокислоты или пептида в тетрагидрофуране, содержащем 2 экв. третичного амина, медленно добавляют по каплям раствор 1 экв. хлорокиси фосфора в тетрагидрофуране; б) раствор амино- и карбоксильного компонента в тетрагидрофуране обрабатывают аддуктом, образующимся при добавлении 1 моля хлорокиси фосфора к 2 молям третичного основания, и в) раствор амино- и карбоксильного компонента в тетрагидрофуране обрабатывают сначала эквимолекулярным количеством хлорангидрида и затем сразу же добавляют 2 экв. третичного основания (методика 80). Поскольку в случае применения в качестве карбоксильного компонента ацильных производных глицина метод «а» приводит к образованию значительных количеств побочных продуктов, лучше пользоваться модификациями метода «б» и «в»; оба последних метода, как правило, приводят к одинаковым выходам продукта реакции. Если в качестве аминокомпонента используют хлоргидрат эфира аминокислоты или пептида, то необходимо добавлять эквивалент третичного амина для выделения свободного

основания. Реакция конденсации обычно проводится при —15° в течение приблизительно 1 *час*; этого времени вполне достаточно для окончания реакции. Следует применять только сухие растворители и защищать реакционную смесь от влаги воздуха. В качестве третичного основания обычно применяют триэтиламин, хотя можно использовать и другие, например трибутиламин, N-этилпиперидин или пиридин.

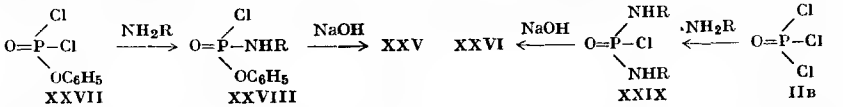
Типичная методика 80 [769]. Этиловый эфир карбобензоксиглицил-L-тирозина. Раствор 2,1 *г* (0,01 моля) карбобензоксиглицина (методики 28 и 30), 2,5 *г* (0,01 моля) хлоргидрата этилового эфира L-тирозина (методика 48) и 1,4 *мл* (0,01 моля) триэтиламина в 50 *мл* безводного тетрагидрофурана охлаждают при встряхивании до —15°. Затем раствор обрабатывают 0, 92 *мл* (0,01 моля) очищенной хлорокиси фосфора и сразу же после этого — 2,8 *мл* (0,02 моля) триэтиламина. Реакционную смесь оставляют на 1 *час* при —15° и после добавления 20 *мл* воды упаривают в вакууме при комнатной температуре для удаления тетрагидрофурана. Остаток обрабатывают 20 *мл* воды и трижды экстрагируют этилацетатом порциями по 20 *мл*; объединенный этилацетатный раствор промывают водой (3 × 5 *мл*), несколько раз 5%-ным раствором бикарбоната натрия и снова водой, высушивают сульфатом натрия и выпаривают досуха при комнатной температуре. Получают около 90% этилового эфира карбобензоксиглицил-L-тирозина с т. пл. 126—127° (без перекристаллизации).

Область применения и ограничения. Метод с использованием хлорокиси фосфора в общем случае дает сравнительно высокие выходы продукта конденсации ациламинокислоты или ацилпептида с эфиром аминокислоты или пептида; очевидно, что для получения удовлетворительных результатов реакцию необходимо проводить в безводной среде. Поскольку синтез пептидов по этому методу лишь в незначительной степени сопровождается образованием побочных продуктов, соответствующее производное пептида выделяется обычно в аналитически чистом виде без перекристаллизации [769]. Особое преимущество этого метода заключается в том, что в данном случае как в качестве карбоксильного, так и в качестве аминного компонентов могут быть использованы производные аминокислот (например, треонина, оксипролина или тирозина) с незащищенной гидроксильной группой. Так, конденсация карбобензокси-L-оксипролина с метиловым эфиром L-триптофана в присутствии хлорокиси фосфора приводит к соответствующему эфиру ацилпептида с выходом около 75%. Однако если один из реагентов содержит остаток цистеина с незащищенной сульфгидрильной группой, то реакция конденсации проходит обычным путем, но сопровождается окислением остатка цистеина в остаток цистина. В случае наличия в одном из реагентов ω-амино- или ω-карбоксильных групп последние должны быть соответствующим образом защищены перед конденсацией. По всей вероятности, наличие в одном из компонентов реакции разветвленной в β-положении боковой цепи не приводит к уменьшению общего выхода; так, при конденсации карбобензокси-DL-валина с этиловым эфиром глицина был получен с выходом 88% этиловый эфир карбобензокси-DL-валилглицина. Хотя при использовании оптически активных карбобензоксиаминокислот и оптически активных эфиров аминокислот, как правило, не наблюдалось рацемизации, отсутствие каких-либо данных по этому вопросу не позволяет быть полностью уверенным в сохранении оптической активности в случае использования других N-защитных групп, отличных от карбобензоксигруппы, или оптически активных реагентов пептидной природы.

Родственные методы. Предыдущее обсуждение касалось главным образом роли хлорокиси фосфора как реагента для активирования карбоксильной группы при образовании пептидной связи. Однако этот реагент или соответствующим образом замещенное его производное может также применяться в синтезе пептидов для активирования аминного компонента. Исследуя относительную реакционную способность такого рода промежуточных амидов фосфорной кислоты, Гольдшмидт и Обермейер [759] синтезировали ряд производных следующих типов:

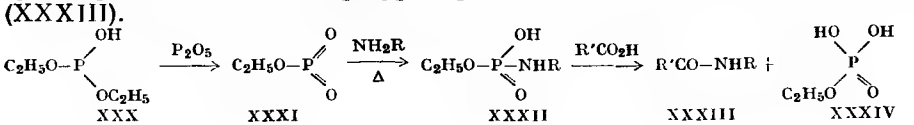


Соединения XIXa, XXIII и XXIV были получены при действии соответствующего амина на хлорокись фосфора, фенилдихлорфосфат и дифенилхлорфосфат соответственно, а соединения XXV и XXVI — путем омыления их монохлорфосфатных аналогов XXVIII и XXIX.



Хотя амиды фосфорной кислоты могут вступать в реакцию с карбоновыми кислотами, образуя соответствующие производные амидов, эта реакция протекает значительно труднее, чем в случае аналогичных амидов фосфористой кислоты (раздел 31). Так, нейтральные фосфатамиды (XIXa, XXIII и XXIV) реагируют с карбоновыми кислотами только при сплавлении, а несколько более реакционноспособные кислые фосфатамиды (XXV и XXVI) способны конденсироваться с карбоновыми кислотами лишь в кипящем толуоле. Во всяком случае, необходимые для такого рода конденсаций сравнительно жесткие условия препятствовали широкому применению фосфатамидов в качестве реагентов для создания пептидных связей.

Несмотря на эти недостатки, кислые фосфатамиды типа XXV были использованы Шраммом и Висманом [769a] для получения нескольких эфиров ацилпептидов сравнительно простого строения. Так, последовательное добавление третичного основания и какого-либо хлоргидрата амина, например хлоргидрата эфира аминокислоты или пептида, к раствору фосфорного ангидрида в диэтилфосфите (XXX) при 100° привело к соответствующему моноамиду моноэтилового эфира фосфорной кислоты (XXXII). Реакция, вероятно, проходит через промежуточное образование этилметафосфата (XXXI); действительно, раствор последнего в кипящем хлороформе также может быть использован для получения соответствующего монофосфатамида (XXXII) вместо смеси фосфорного ангидрида с диэтилфосфитом. Конденсация карбоксильного компонента с соединением XXXII (выделенным в чистом виде или без выделения) путем кипячения хлороформного раствора реагентов или нагревания их при 100° в течение нескольких часов в растворе диэтилфосфита или, наконец, путем выдерживания в течение нескольких суток при комнатной температуре приводит к соответствующему амиду (XXXIII).



35. Метод с использованием эфиров N-карбонил-α-аминокислот. *Принцип.* Действие фосгена (I) на хлоргидрат эфира аминокислоты (II) в горячем толуольном растворе приводит к образованию соответствующего эфира N-карбонил-α-аминокислоты (III). В результате обработки последнего (IIIa) ациламинокислотой или ацилированным пептидом, или какой-либо другой карбоновой кислотой (V) в среде подходящего органического растворителя образуется соответствующий замещенный амид кислоты (VII) и выделяется двуокись углерода. По-видимому, такая реакция конденсации проходит через промежуточно образующийся ангидрид карбоновой и карбаминовой кислот (VI), который затем претерпевает деструкцию до нужного соединения (VII).

$$\underset{\text{I}}{COCl_2} + \underset{\text{II}}{HCl\cdot NH_2CHRCO_2Et} \xrightarrow[\Delta]{\text{Толуол}} \underset{\text{III}}{O{=}C{=}NCHRCO_2Et} + \underset{\text{IV}}{3HCl}$$

$$\underset{\text{V}}{R'CO_2H} + \underset{\text{IIIa}}{O{=}C{=}NCHRCO_2Et} \longrightarrow \underset{\text{VI}}{R'CO{-}O{-}CONHCHRCO_2Et} \longrightarrow \underset{\text{VII}}{R'CO{-}NHCHRCO_2Et} + \underset{\text{VIII}}{CO_2}$$

Общие соображения. Хотя свойства эфиров N-карбониламинокислот были давно известны, их потенциальное значение как реакционноспособных промежуточных соединений для синтеза пептидов не привлекало к себе внимания исследователей вплоть до начала пятидесятых годов нашего столетия. Еще в 1850 г. Вюрц [770] на ряде простых примеров показал, что при взаимодействии эфиров изоциановой кислоты (IIIa) с карбоновыми кислотами (V) образуются замещенные амиды кислот (VII). Работами нескольких групп исследователей [771—773] было установлено, что эта реакция протекает через промежуточно образующийся ангидрид карбоновой и карбаминовой кислот (VI), который может быть выделен в индивидуальном состоянии. Однако, несмотря на то что уже давно велись интенсивные поиски удобных методов синтеза пептидов, потенциальная ценность этой реакции для пептидной химии ни одним из исследователей не была отмечена. Такое очевидное упущение может быть отчасти объяснено тем хорошо известным фактом, что реакции ароматических изоцианатов, например фенилизоцианата, сопровождаются образованием значительного количества побочных продуктов. Так, например, показано, что смешанные ангидриды типа X, получаемые из ароматических изоцианатов, кроме нужного производного пептида, образуют в результате диспропорционирования значительные количества дизамещенной мочевины (XI) и симметричных ангидридов (XII и XIII). Лишь в 1950 г., т. е. приблизительно через 100 лет после

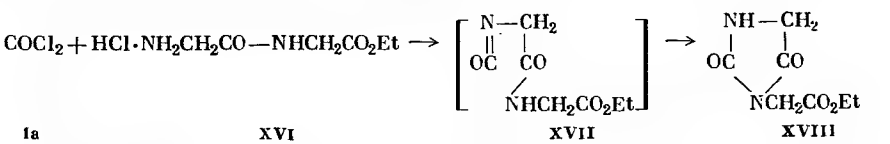
$$\underset{\text{Va}}{RCO_2H} + \underset{\text{IX}}{O{=}C{=}NAr} \longrightarrow \underset{\text{X}}{RCO{-}O{-}CONHAr} \longrightarrow \underset{\text{XI}}{(ArNH)_2CO} + \underset{\text{XII}}{(RCO_2)_2CO} \longrightarrow \underset{\text{XIII}}{(RCO)_2O} + \underset{\text{VIIIa}}{CO_2}$$

работ Вюрца, Гольдшмидту и Вику [774] удалось распространить эти исследования на синтез пептидов. Таким образом, если в реакции, аналогичной реакции Вюрца, в качестве карбоновой кислоты использовать ациламинокислоту (XIV) или ацилпептид, то образуется соответствующее производное пептида (XV). Проведенное Фрайем [775] изучение механизма этой реакции

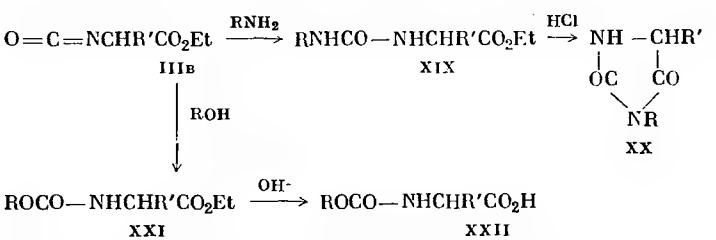
$$\underset{\text{XIV}}{RCO{-}NHCHR^1CO_2H} + \underset{\text{IIIб}}{O{=}C{=}NCHR^2CO_2Et} \longrightarrow \underset{\text{XV}}{RCO{-}NHCHR^1CO{-}NHCHR^2CO_2Et} + CO_2$$

с помощью меченных (C^{14}) по карбоксильной группе кислот показало, что выделяющаяся при обработке изоцианата карбоновыми кислотами двуокись углерода образуется за счет первого реагента.

Реакционноспособные эфиры N-карбонил-α-аминокислот могут быть получены путем а) взаимодействия эфиров алифатических α-галогенокислот с солями циановой кислоты [776], б) разложения по Курциусу азидов полуэфиров С-замещенных аминомалоновых кислот [777] и в) действия фосгена (I) на хлоргидрат эфира аминокислоты (II) [774, 778—780]. На практике, однако, методы «а» и «б» не применяются, поскольку в первом методе замещение происходит у α-углеродного атома и, следовательно, может сопровождаться или вальденовским обращением, или рацемизацией, если используются оптически активные эфиры алифатических α-галогенокислот, а во втором случае асимметрический α-центр образуется в процессе синтеза, что приводит к получению рацемических соединений. С другой стороны, метод «в» можно широко использовать для получения эфиров оптически активных N-карбониламинокислот без сколько-нибудь заметной рацемизации [774]. Однако использование метода «в» в случае эфиров пептидов не приводит к образованию соответствующих N-карбонилпроизводных. Так, Гольдшмидт и Вик [774] при попытке получить путем обработки хлоргидрата этилового эфира глицилглицина (XVI) фосгеном (Ia) в горячем толуольном растворе этиловый эфир N-карбонилглицилглицина выделили вместо этого с почти количественным выходом эфир гидантоин-3-уксусной кислоты (XVIII), образовавшийся, по-видимому, в результате внутримолекулярной циклизации эфира N-карбонилпептида (XVII).



Эфиры N-карбониламинокислот по своему химическому поведению близки простейшим изоцианатам и поэтому могут участвовать в ряде интересных реакций. Так, действие аминов на эти реакционноспособные производные (IIIв) приводит к соответствующим эфирам карбамиламинокислот (XIX), которые в свою очередь при обработке соляной кислотой легко превращаются в гидантоины (XX) [774]. С другой стороны, при взаимодействии эфиров N-карбониламинокислот со спиртами с хорошим выходом образуются эфиры карбалкоксиаминокислот (XXI), которые при омылении превращаются в соответствующие карбалкоксиаминокислоты (XXII). Последний метод, действительно, может быть применен для получения ряда ценных



карбобензокси- (XXII; $R = C_6H_5CH_2$), *трет*-бутилоксикарбонильных (XXII); $R = (CH_3)_3C$ (методика 81), а также ряда других производных аминокислот [465, 774].

Типичная методика 81 [465]. *трет*-Бутилоксикарбонилглицин. Смесь 0,37 моля этилового эфира N-карбонилглицина (карбэтоксиметилизоцианата), 1,0 моля *трет*-бутилового спирта и 0,37 моля триэтиламина кипятят

в течение 2,5 *час* (предохраняя реакционную смесь от влаги воздуха) и затем оставляют на ночь при комнатной температуре. Летучие вещества отгоняют путем нагревания смеси на водяной бане в вакууме и остаток омыляют, добавляя к нему смесь 100 *мл* диоксана и 100 *мл* 15-%-ного раствора едкого натра. Смесь оставляют на 2 *час* при комнатной температуре, подкисляют концентрированной соляной кислотой и сырой продукт реакции трижды экстрагируют эфиром порциями по 100 *мл*. После упаривания эфирного раствора получают 55 *г* (85%) кристаллического вещества, т. пл. 80—85°. Перекристаллизация из смеси этилацетата с петролейным эфиром приводит к нужному продукту реакции с т. пл. 85—90°.

Экспериментальные условия. Практически эфиры N-карбониламинокислот обычно получают действием фосгена на хлоргидрат эфира соответствующей аминокислоты в толуольном растворе при 120° (методика 82); в случае применения оптически активных реагентов, как правило, не происходит заметной рацемизации [774]. При соблюдении всех условий выходы в реакции фосгенирования обычно не бывают ниже 90% теории; на этой стадии существенно полное отсутствие влаги. Необходимым условием для получения высокого выхода является полнота этерификации аминокислоты; этого можно достичь путем многократного нагревания аминокислоты с раствором хлористого водорода в этаноле. Поскольку трихлорметиловый эфир хлормуравьиной кислоты, «дифосген» ($ClCO_2CCl_3$), разлагается при нагревании на 2 молекулы фосгена, этот реагент можно использовать вместо последнего, хотя иногда такая замена приводит к значительному снижению общего выхода. Эфиры N-карбониламинокислот представляют собой бесцветные масла, обладающие резко выраженными лакриматорными свойствами; они могут быть перегнаны без заметного разложения и вполне устойчивы при продолжительном хранении в отсутствие влаги; эти соединения не имеют склонности к полимеризации, столь характерной для многих других изоцианатов. В присутствии следов влаги, однако, эфиры N-карбониламинокислот легко разлагаются, образуя производные мочевины.

Конденсация ациламинокислоты (XIV) или ацилпептида с эфиром N-карбониламинокислоты (IIIб), приводящая к получению нужных производных пептидов (XV), обычно проводится путем нагревания смеси этих двух реагентов в сухом инертном растворителе, например толуоле, ксилоле или изоамиловом эфире, при 110° до прекращения выделения двуокиси углерода; если температура плавления ациламинокислоты не превышает 150°, можно нагревать два компонента реакции в отсутствие растворителя (методика 83) [774]. Особенно выгодно применять в качестве растворителя пиридин, так как благодаря каталитическому действию последнего реакция происходит уже при комнатной температуре и быстро заканчивается при нагревании до 50—60°. Относительная реакционноспособность эфиров различных N-карбониламинокислот, по-видимому, значительно зависит от степени стерических препятствий, обусловленных боковыми цепями аминокислот; например, пространственно весьма экранированные производные α-аминоизомасляной кислоты реагируют значительно медленнее, чем производные глицина. С другой стороны, карбобензоксиаминокислоты реагируют значительно быстрее соответствующих фталиламинокислот, что, вероятно, связано с различной растворимостью этих соединений. Во всяком случае, обычно для окончания реакции в пиридиновом растворе требуется 30—60 *мин*; несколько более продолжительное время требуется для проведения реакции в среде другого растворителя или в его отсутствие. Выходы продукта реакции, как правило, составляют около 90% теории.

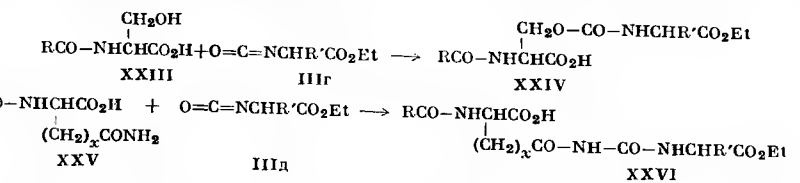
Типичная методика 82 [774]. Этиловый эфир N-карбонил-S-бензил-L-цистеина. В трехгорлую колбу, снабженную герметичной мешалкой, трубкой для подвода газа и обратным холодильником, помещают 27,5 *г* хлоргидрата этилового эфира S-бензил-L-цистеина (методика 48) (высушенного в вакууме при 50°) и 100 *мл* абсолютного толуола. Колбу помещают в масляную баню, температуру которой поддерживают в интервале 130—160°, и через реакционную смесь при энергичном перемешивании пропускают в течение 1 *час* 30 *мин* сильный ток фосгена; при этом выделяется хлористый водород и хлоргидрат аминоэфира постепенно переходит в раствор. После того как весь хлоргидрат растворился, толуол отгоняют при 45° с эффективной колонкой и остаток фракционируют в вакууме. Получают 24 *г* (91%) этилового эфира карбонил-S-бензил-L-цистеина в виде бесцветной жидкости с резким запахом; т. кип. 201°/11 *мм*; $[\alpha]_D^{18}$ —41,9° (без растворителя); это соединение следует хранить при полном отсутствии влаги.

Полученные аналогичным образом этиловые эфиры N-карбонильных производных других аминокислот имели следующие температуры кипения: DL-α-амино-*н*-масляная кислота 81°/13 *мм*; DL-α-аминоизомасляная кислота 61,5°/12 *мм*; DL-изолейцин 94°/11 *мм*; DL-лейцин 97°/11 *мм*; L-лейцин 104.5°/15 *мм*; DL-норлейцин 104°/14 *мм*; DL-норвалин 94°/14 *мм*; DL-метионин 155°/24 *мм*; DL-фенилаланин 152°/10 *мм*; DL-фенилглицин 152°/17 *мм*; DL-валин 87°/11 *мм*. Диэтиловые эфиры N-карбонильных производных L-аспарагиновой (т. кип. 130°/10 *мм*) и L-глутаминовой кислот (т. кип. 151°/10 *мм*) получают в ксилоле в несколько отличных условиях. Выходы в большинстве случаев составляют 90% или выше.

Типичная методика 83 [774]. Этиловый эфир карбобензоксиглицил-S-бензил-L-цистеина. Смесь 2,3 *г* сухого карбобензоксиглицина (методика 28) и 2,6 *г* этилового эфира карбонил-S-бензил-L-цистеина (методика 82) нагревают на масляной бане при 110° до прекращения выделения углекислого газа (около 1,5 *час*). Реакционную смесь охлаждают и обрабатывают 2 *мл* 10% раствора карбоната натрия. После перекристаллизации остатка из метанола получают с выходом около 90% нужный продукт реакции; т. пл. 80°; $[\alpha]_D^{20}$ —45,9°, в метаноле.

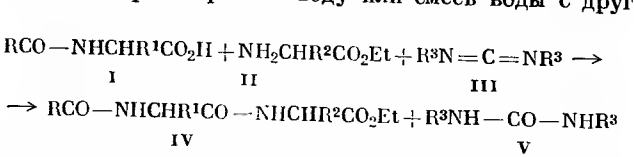
Область применения и ограничения. Применение метода эфиров N-карбониламинокислот обычно приводит к высоким выходам соответствующих пептидов. Хотя получение по этому методу оптически активных эфиров карбобензокси- или фталилдипептидов не сопровождается рацемизацией, в настоящее время практически нет данных о сохранении оптической активности в случае использования других N-защитных группировок или в случае применения в качестве одного из реагентов ацилпептида с оптически активной С-концевой аминокислотой. Если карбоксильный компонент содержит остатки глутаминовой, аспарагиновой или какой-либо другой поликарбоновой кислоты, то карбоксильные группы этих остатков должны быть соответствующим образом защищены; точно так же необходимо защищать дополнительные кислотные или основные группы, присутствующие в молекуле эфира аминокислоты, из которого получается соответствующее N-карбонильное производное. Действие следов воды на реакционноспособные эфиры N-карбонильных производных аминокислот приводит к образованию производных мочевины, которые не всегда легко можно отделить от конечного соединения (ср. с работой [781]); поэтому необходимо строго следить за полным отсутствием влаги. Кроме того, ацилированные оксиаминокислоты (XXIII) образуют уретаны (XXIV), а из ацильных производных

глутамина (XXV; $x = 2$) и аспарагина (XXV; $x = 1$) получаются N-ацилмочевины (XXVI) (ср. с работой [781]).



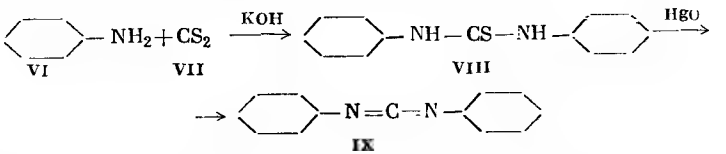
Наконец, следует отметить, что при взаимодействии эфиров N-карбониласпарагиновой или N-карбонилглутаминовой кислот с ациламинокислотой из реакционной смеси могут быть выделены карбонил-*бис*-аминопроизводные эфиров моноаминодикарбоновых кислот; образование последних объясняется реакцией диспропорционирования, аналогичной рассмотренному ранее диспропорционированию ароматических изоцианатов.

36. Карбодиимидный метод. *Принцип.* Производное пептида (IV) может быть легко получено действием 1 моля N,N′-дизамещенного карбодиимида (III) на раствор 1 моля ациламинокислоты (I) или ацилпептида и 1 моля эфира аминокислоты (II) или пептида; если второй реагент используется в виде соли, то добавляют также 1 моль третичного основания. Реакция сопровождается образованием одного моля N,N′-дизамещенной мочевины (V). Последнее соединение (V) может быть выделено в виде нерастворимого осадка или может остаться в растворе в зависимости от строения исходного N,N′-дизамещенного карбодиимида и природы растворителя. Получение пептида обычно проводят при комнатной температуре в инертном органическом растворителе, хотя в некоторых случаях с успехом можно применять в качестве растворителя воду или смесь воды с другим растворителем.



Общие соображения. Синтез первого алифатического карбодиимида, N,N′-диэтилкарбодиимида (III; $R^3 = C_2H_5$), был описан Ченселом [782] в 1893 г.; спустя 45 лет Шмидт, Хитцлер и Ладе [782] подробно описали получение N,N′-ди-*н*-пропил-, N,N′-ди-*н*-бутил-, N,N′-диизобутил-, N,N′-диаллил-, N-*н*-пропил-N′-аллил-, N-циклогексил- N′-аллил-, N-циклогексил-N′-кротил-, N,N′-дициклогексил- и N-β-оксиэтил-N′-аллилкарбодиимидов. Блестящими исследованиями Корана [783] и Цецше [784] и их сотрудников установлено, что этот класс соединений может быть использован в качестве конденсирующих агентов при реакции соответствующей карбоновой кислоты и эфиров фосфорной кислоты при получении моно- или полифосфатнуклеозидов и подобных им соединений. В опубликованном в 1955 г. кратком сообщении Шихан и Хесс [785] показали, что N,N′-дизамещенные карбодиимиды могут также быть применены как реагенты для создания пептидной связи между карбоксильной и аминогруппами. Так, действие N,N′-дициклогексилкарбодиимида (III, R^3 = *цикло*-C_6H_{11}) на раствор соответствующих реагентов (I и II) приводит к нужному производному пептида, а также N,N′-дициклогексилмочевине (V; R^3 = *цикло*-C_6H_{11}). Поскольку это соединение практически нерастворимо в большинстве применяемых при

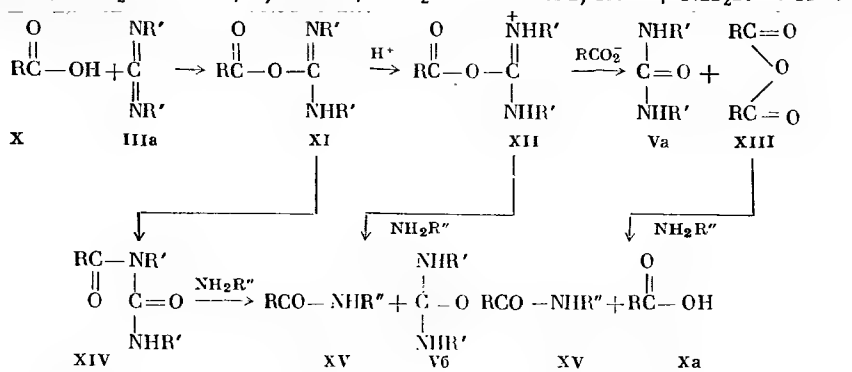
синтезе пептидов растворителей, оно может быть легко отделено от соответствующего пептида, что устраняет опасность загрязнения последнего. Особое преимущество применения N,N′-дициклогексилкарбодиимида заключается в удобстве работы с ним, поскольку хорошие результаты получаются при действии этого реагента на раствор аминного и карбоксильного компонентов при комнатной температуре как в отсутствие, так и при наличии в реакционной смеси воды. Другим достоинством этого реагента является его нечувствительность к влаге, а также тот факт, что при работе с ним можно не защищать гидроксильные группы остатков оксиаминокислот; последним преимуществом ранее обладал лишь классический азидный метод (раздел 26). N,N′-Дициклогексилкарбодиимид обычно получают путем конденсации двух молекул циклогексиламина (VI) с одной молекулой сероуглерода (VII) в теплом этанольном растворе в присутствии следов щелочи с последующим отщеплением сероводорода от образовавшейся N,N′-дициклогексилтиомочевины (VIII) с помощью окиси ртути (методика (84).



Типичная методика 84 [782]. N,N′-Дициклогексилкарбодиимид (IX). К раствору 60 *г* циклогексиламина в 150 *г* этанола добавляют 60 *г* сероуглерода и небольшой кристаллик едкого кали. Смесь нагревают до прекращения выделения сероводорода и раствор упаривают. После перекристаллизации остатка из этанола получают чистую N,N′-дициклогексилтиомочевину, плавящуюся при 180—181° [786]. В сухой, плотно закрытый сосуд емкостью 1 *л* помещают 40 *г* тонкоизмельченной N,N′-дициклогексилтиомочевины, 400 *мл* сероуглерода и 100 *г* окиси ртути и смесь встряхивают в течение 75 *мин*. Осадок отфильтровывают, промывают три раза петролейным эфиром и объединенные фильтраты снова фильтруют. После упаривания раствора, при пониженном давлении получают сырой продукт реакции в виде масла, которое перегоняют при 11 *мм* почти без остатка (первые 2—3 *мл* дистиллята отбрасывают); выход 29,5 *г* (86%). После повторной перегонки получают чистый N,N′-дициклогексилкарбодиимид с т. кип. 154—156°/11 *мм* (температура масляной бани 185°). Вещество кристаллизуется при комнатной температуре и не разлагается при длительном хранении.

Спустя несколько месяцев после появления сообщения Шихана и Хесса [785] Корана [787] опубликовал работы, посвященные критическому изучению общего механизма синтеза пептидов с помощью дициклогексилкарбодиимида и тщательному анализу ряда вопросов, которые могут возникнуть при применении этого реагента. Так, Корана считал, что реакция конденсации, приводящая к образованию нужного производного пептида (XV), может происходить указанным на приведенной ниже схеме путем; согласно этому механизму, карбодиимид (IIIа) прежде всего реагирует с карбоновой кислотой (X), образуя О-ациллактимид (XI), который в свою очередь может превращаться или в активированные производные (XII или XIII) исходной карбоновой кислоты, или путем перегруппировки с переносом ацильной группы в N-ацилмочевину (XIV). Если эти предположения правильны, то можно ожидать, что процесс синтеза пептидов или амидов (XV) будет происходить по одному или нескольким из следующих трех путей:

а) XII + NH_2R'' → XV, б) XIII + NH_2R'' → XV и в) XIV + NH_2R'' → XV.

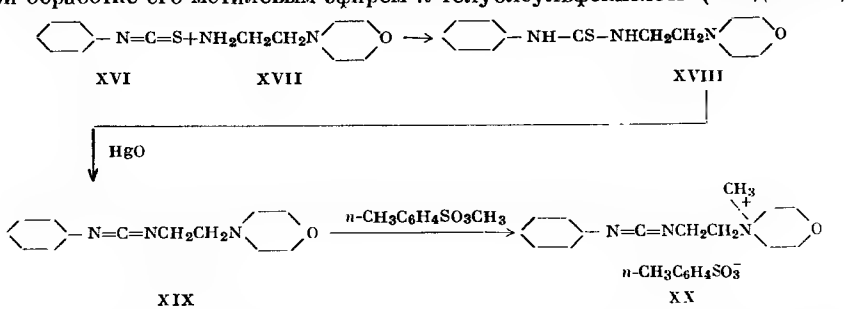


Взяв за основу эти теоретические положения, Корана изучил природу соединений, выделенных из смеси нейтральных веществ, которая была получена обработкой этилового эфира глицина и различных N-ациламинокислот (X) N,N′-дициклогексилкарбодиимидом (IIIa; R′-*цикло*-C_6H_{11}) в среде хлороформа, диоксана, эфира и тетрагидрофурана с последующим отделением нерастворимой дициклогексилмочевины (Va,б; R′ = *цикло*-C_6H_{11}). Эти нейтральные вещества оказались соответствующим эфиром пептида (XV) и N-ацилмочевиной типа XIV. Последнее соединение было, по-видимому, вполне устойчивым и не проявляло склонности вступать в конденсацию с эфирами аминокислот в мягких условиях. Из этого, однако, не следует, что соединения подобного типа всегда в такой же степени малореакционноспособны; так, например, N-(N-карбобензоксиглицил)-N,N′-ди-*п*-толилмочевина (XIV; R = $C_6H_5CH_2OCO$ — $NHCH_2$, R′= *п*-$CH_3C_6H_4$) легко реагирует с циклогексиламином, образуя циклогексиламид карбобензоксиглицина и ди-*п*-толилмочевину. На основе этих и ряда других наблюдений были сделаны следующие выводы: а) относительное количество образующейся при конденсации ацилмочевины (XIV) в значительной степени зависит в каждом частном случае от природы производного пептида, карбодиимида и растворителя, б) присутствие сравнительно небольших количеств XIV может затруднить выделение нужного соединения и в) отделение дициклогексилмочевины не всегда достигается легко, особенно при синтезе производных высших пептидов. Отмечено также, что поскольку перегруппировка XI → XIV происходит по внутримолекулярному механизму, в то время как реакции типа XI → XII → XIII и XII → XV являются бимолекулярными, образованию нужных соединений благоприятствует повышение концентрации реагентов в реакционной смеси. Следовательно, уменьшение количества растворителя до минимума способствует протеканию реакции в нужном направлении.

В 1946 г. Шиханом, Гудманом и Хессом [524] были опубликованы работы по более детальному изучению применения N,N′-дициклогексилкарбодиимида как конденсирующего агента в синтезе пептидов, содержащих остатки оксиаминокислот, т. е. треонина, оксипролина и серина. Этими исследователями найдено, что на степень образования N-ацилмочевины большое влияние оказывает природа растворителя; это согласуется с опубликованными ранее данными Корана [787]. Так, конденсация фталил-L-треонина (X; R = Phth — $NCH(CHOHCH_3)$) с эфирами аминокислот как в диоксане, так и в тетрагидрофуране приводит к образованию, кроме нужного пепти-

да, фталил-L-треонил-N,N′-дициклогексилмочевины (XIV; R = Phth — $NCH(CHOHCH_3)$, R′ = *цикло*-C_6H_{11}). С другой стороны, при проведении аналогичной реакции в очищенном хлористом метилене или ацетонитриле не наблюдалось образования побочных продуктов. Не следует, однако, истолковывать эти результаты таким образом, что такое же положение будет иметь место и в случае применения других реагентов или карбодиимидов другого типа.

Как отмечал Корана [787], побочный продукт реакции (1,3-дициклогексилмочевина), образующийся при использовании 1,3-дициклогексилкарбодиимида в качестве конденсирующего средства в синтезе пептидов, в ряде случаев может быть нежелательным, например при синтезе малорастворимых высших полипептидов. Чтобы обойти эти затруднения, Шихан и Главка [788] получили ряд новых карбодиимидов, молекулы которых содержат третичные аминогруппы или являются четвертичными аммониевыми основаниями и которые поэтому образуют производные мочевины, растворимые соответственно в разбавленных кислотах и в чистой воде, что позволяет легко отделять соответствующий пептид от побочно образующихся производных мочевины. Из изученных карбодиимидов наиболее перспективными оказались 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-(4)-этил)-карбодиимид (XIX) и его соответствующий мето-*п*-толуолсульфонат (XX), которые были получены при взаимодействии циклогексилизотиоцианата (XVI) с N-(2-аминоэтил)-морфолином (XVII) с последующим десульфгидрированием образовавшейся тиомочевины (XVIII) до карбодиимида (XIX) и превращением XIX в XX при обработке его метиловым эфиром *п*-толуолсульфокислоты (методика 85):



Подобная же методика использована для получения 1,3-ди-(4-диэтиламиноциклогексил)-карбодиимида, 1-циклогексил-3-(β-диэтиламиноэтил)-карбодиимида, 1-циклогексил-3-(4-диэтиламиноциклогексил)-карбодиимида и его мето-*п*-толуолсульфоната. В связи с этим можно отметить, что раствор 1-циклогексил-3-(морфолинил-(4)-этил)-карбодиимида в диметилформамиде с успехом использован для конденсации карбобензокси-L-аспарагинил-L-нитроаргинил-L-валил-L-тирозина с метиловым эфиром L-изолейцил-L-гистидил-L-пролил-L-фенилаланина; полученный таким образом метиловый эфир карбобензокси-L-аспарагинил-L-нитроаргинил-L-валил-L-тирозил-L-изолейцил-L-гистидил-L-пролил-L-фенилаланина является ключевым веществом в синтезе гипертенсина II [714]; преимущество этого метода заключается в чрезвычайно легкой растворимости в воде одновременно образующихся производных мочевины, что дало возможность отделить их от весьма трудно растворимого эфира карбобензоксиоктапептида.

Типичная методика 85 [788]. **Мето-*п*-толуолсульфонат 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-(4)-этил)-карбодиимида (XX).** К раствору 30 *г* циклогек-

силамина в абсолютном эфире добавляют 11,4 *г* сероуглерода, эфир отгоняют и остаток обрабатывают 40,5 *г* хлорной ртути и 600 *мл* воды. Смесь перегоняют при атмосферном давлении, используя нисходящий холодильник. После экстракции дистиллята эфиром и последующего упаривания эфирного экстракта получают 27 *г* циклогексилизотиоцианата (XVI) с т. кип. 219° при 746 *мм* [786] в виде масла. Это соединение имеет чрезвычайно резкий запах, напоминающий запах горчичного масла. Раствор 19,4 *г* (0,138 моля) циклогексилизотиоцианата и 18,0 *г* (0,138 моля) N-(2-аминоэтил)-морфолина (XVII) в 500 *мл* эфира кипятят с обратным холодильником в течение 10 *мин*. После охлаждения выпадают кристаллы 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-(4)-этил)-тиомочевины (XVIII); выход 36 *г* (96%); т. пл. 128—129°. Смесь 4,0 *г* этого соединения и 6,0 *г* окиси ртути в 50 *мл* ацетона кипятят 6 *час*, реакционную смесь фильтруют, к фильтрату добавляют еще 6,0 *г* окиси ртути и суспензию кипятят в течение 6 *час*. Осадок отфильтровывают, фильтрат упаривают в вакууме и остаток дважды промывают бензолом путем декантации. Маслянистый остаток перегоняют в вакууме и получают 2,4 *г* (70%) 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-(4)-этил)-карбодиимида (XIX) с т. кип. 145°/0,2 *мм*. Смесь 0,5 *г* (2,1 *ммоля*) последнего соединения и 0,39 *г* (2,1 *ммоля*) метилового эфира *п*-толуолсульфокислоты нагревают на паровой бане в течение 20 *мин*. Реакционную смесь растворяют в бензоле; после охлаждения выпадает 0,6 *г* (68%) кристаллического мето-*п*-толуолсульфоната (XX); т. пл. 113—115°.

Экспериментальные условия. Из различных доступных в настоящее время N,N′-дизамещенных карбодиимидов наибольшее применение в качестве конденсирующих агентов для синтеза производных малых и больших пептидов находят дициклогексилкарбодиимид и 1-циклогексил-3-(морфолинил-(4)-этил)-карбодиимид (или его мето-*п*-толуолсульфонат) соответственно. В случае применения первого реагента образуется побочный продукт реакции — N,N′-дициклогексилмочевина; растворимость этого соединения в большинстве органических и водных растворителей ничтожно мала, а поэтому оно в подавляющем большинстве случаев легко может быть отделено путем простого фильтрования, поскольку для эфиров небольших ацилпептидов характерна легкая растворимость в большинстве органических растворителей. Однако производные высших ацилпептидов большей частью плохо растворяются в водных и многих неводных средах, а поэтому становится весьма желательным, чтобы карбодиимиды, с помощью которых осуществляется синтез таких пептидов, в процессе конденсации превращались в легко растворимые соединения. Этому условию удовлетворяют карбодиимиды, молекулы которых содержат третичную амино- или четвертичную аммонийную группы; они превращаются в производные мочевины, растворимые в воде или разбавленных кислотах. В методиках 84 и 85 описывается получение соответствующих карбодиимидов. Получение пептидов посредством этих реагентов обычно проводится путем перемешивания раствора, содержащего эквимолекулярные количества карбодиимида, ациламинокислоты или ацилпептида и эфира аминокислоты или пептида при комнатной температуре; время реакции зависит от природы карбодиимида и колеблется от 4—15 *час* в случае дициклогексилкарбодиимида (методика 86) и 1-циклогексил-3-(морфолинил-(4)-этил)-карбодиимида до приблизительно 48 *час* в случае мето-*п*-толуолсульфоната последнего (методика 87). Хотя конденсация может проводиться в различных органических растворителях, например, в диоксане, тетрагидрофуране, хлористом метилене, ацетонитриле, диметилформамиде и др., в ряде случаев с успехом применялись водные смеси и даже

чистая вода; наилучшие результаты, однако, как правило, получаются при применении неводных растворителей.

Типичная методика 86 [454]. Бензиловый эфир карбобензокси-L-треонил-D-аланина. К раствору 12,7 *г* карбобензокси-L-треонина (методика 30), 17,6 *г* *п*-толуолсульфоната бензилового эфира D-аланина (методика 56) и 7,0 *мл* триэтиламина в 200 *мл* хлористого метилена добавляют 10,9 *г* N,N′-дициклогексилкарбодиимида (методика 84). Смесь оставляют на 4 *час* при 25° и добавляют 0,5 *мл* уксусной кислоты. Выпавшую дициклогексилмочевину отфильтровывают, фильтрат промывают последовательно водой, разбавленной соляной кислотой, водой, 5%-ным раствором бикарбоната натрия, еще раз водой и, наконец, высушивают безводным сульфатом натрия. Раствор упаривают, оставшуюся смесь кристаллов и масла растворяют в небольшом количестве хлористого метилена и нерастворимый осадок отфильтровывают. Фильтрат упаривают и оставшееся масло закристаллизовывают, высушивая его в вакууме над фосфорным ангидридом. Кристаллы обрабатывают небольшим количеством эфира и отфильтровывают; хотя это соединение хорошо растворимо в эфире и, следовательно, применение этого растворителя сопровождается значительными потерями вещества, необходимость такой обработки вызывается тем, что при попытках перекристаллизовать сырые, непромытые эфиром кристаллы из смеси петролейного эфира с эфиром или ацетоном образуется желатиноподобная масса, отфильтровать которую чрезвычайно трудно. Белые кристаллы перекристаллизовывают из смеси ацетона с петролейным эфиром; выход 5,4 *г*; т. пл. 147°; $[\alpha]_D^{27}$ —0,6° (2%, в ледяной уксусной кислоте).

Метиловый эфир фталил-L-треонил-L-фенилаланина [524]. К раствору 0,35 *г* (0,0014 моля) фталил-L-треонина (методика 34) в 6 *мл* очищенного хлористого метилена добавляют 0,50 *г* (0,0028 моля) свежеприготовленного метилового эфира L-фенилаланина. Последний получают путем нейтрализации карбонатом калия до pH 9,0 раствора хлоргидрата метилового эфира L-фенилаланина (методика 48) с последующей экстракцией эфиром. К реакционной смеси добавляют 0,29 *г* (0,0014 моля) N,N′-дициклогексилкарбодиимида (методика 84); хотя осадок N,N′-дициклогексилмочевины начинает выпадать немедленно после добавления карбодиимида, смесь оставляют на 5 *час* при комнатной температуре. Осадок отфильтровывают и раствор продукта реакции в хлористом метилене промывают последовательно 1 н. соляной кислотой, водой, 1 н. раствором бикарбоната калия, еще раз водой и высушивают безводным сульфатом натрия. Растворитель отгоняют в вакууме при 40° и оставшееся вещество перекристаллизовывают из смеси ацетона с эфиром; выход 0,52 *г* (91%). После двух перекристаллизаций из смеси ацетона с эфиром т. пл. 153—154°; $[\alpha]_D^{27}$ +1,9° (6,6%, в диметилформамиде).

Типичная методика 87 [788]. Этиловый эфир фталил-L-фенилаланил-L-лейцина. К 0,268 *г* (1,36 *ммоля*) хлоргидрата этилового эфира L-лейцина (методика 48) в 4 *мл* ацетонитрила добавляют последовательно 0,19 *мл* (1,36 *ммоля*) триэтиламина, 0,40 *г* (1,36 *ммоля*) фталил-L-фенилаланина (методика 33) и 0,58 *г* (1,36 *ммоля*) мето-*п*-толуолсульфоната 1-циклогексил-3-(морфолинил-(4)-этил)-карбодиимида (методика 85). Смесь перемешивают два дня при комнатной температуре, растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток растворяют в эфире. Эфирный раствор промывают разбавленной соляной кислотой, водой, 1 н. раствором бикарбоната натрия и еще раз водой, высушивают безводным сульфатом натрия и выпаривают

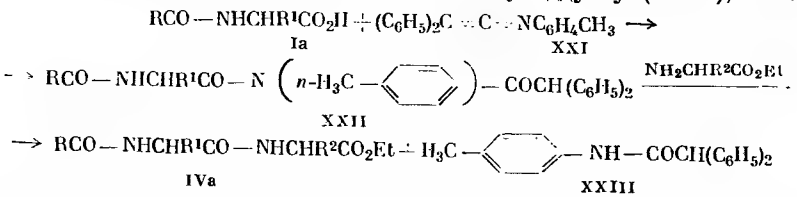
в вакууме досуха. Остаток перекристаллизовывают из смеси этилацетата с лигроином; выход 0,45 *г* (80%); т. пл. 108—109°; $[\alpha]_D^{26}$ —115° (в спирте).

Область применения и ограничения. Хотя можно считать, что в большинстве случаев применение N,N′-дизамещенных карбодиимидов в качестве конденсирующих агентов в синтезе пептидов с удовлетворительным выходом приводит к соединениям высокой степени аналитической чистоты, иногда нужное производное пептида получается со значительно меньшим выходом вследствие того, что реакция сопровождается побочным процессом — образованием N-ацилмочевин [524, 678, 787]. Несмотря на этот недостаток, метод с использованием N,N′-дизамещенных карбодиимидов представляет собой один из наиболее простых и удобных из всех известных в настоящее время методов создания пептидных связей. Поскольку эти реагенты сравнительно устойчивы в присутствии воды, наличие влаги не влияет на ход конденсации; в частности, такие реакции могут с успехом проводиться даже в водных средах [785, 788]. Во всяком случае, применение карбодиимидов устраняет необходимость соблюдения ряда предосторожностей, обязательных при использовании других реагентов, работа с которыми может проводиться только в безводной среде. Преимуществом карбодиимидного метода является также то обстоятельство, что реакции могут с успехом проводиться при комнатной температуре.

Карбодиимидный метод может быть успешно применен в конденсациях с участием большинства ациламинокислот; особого упоминания заслуживает возможность его использования в случае формил- и тритиламинокислот. В последнем случае реакция не ограничивается тритильными производными глицина и аланина, как это имеет место при синтезе пептидов с помощью других рассмотренных ранее методов (ср. разделы 26—29), а может быть с тем же успехом распространена на ряд других тритиламинокислот (ср. с работами [675, 789, 790]). Иногда синтез пептидов посредством карбодиимидов может сопровождаться заметной рацемизацией; так, Гофманом, Вулнером, Шпюлером и Шварцем [791] установлено, что полученный при конденсации карбобензокси-L-гистидил-L-фенилаланил-нитро-L-аргинина с бензиловым эфиром L-триптофилглицина с помощью N,N′-дициклогексилкарбодиимида бензиловый эфир карбобензоксипентапептида содержит только 40% нужного полностью L-изомера, что показано путем его каталитического гидрогенолиза с последующим энзиматическим расщеплением образовавшегося свободного пентапептида с помощью трипсина и лейцинаминопептидазы; возможность рацемизации при синтезе пептидов карбодиимидным методом подтверждается также работами Андерсона и Каллахана [791]; этим исследователям методом фракционной кристаллизации удалось показать, что полученный в аналогичных условиях продукт конденсации карбобензоксиглицил-L-фенилаланина с этиловым эфиром глицина содержит около 12% рацемата. Большое значение может иметь тот факт, что осуществленная с помощью карбодиимида конденсация формил-L-фенилаланина с анилидом глицина привела к соединениям, полностью сохранившим оптическую активность [586], в то время как при конденсации этих соединений методом смешанных ангидридов с алкилугольными кислотами (раздел 29) было получено соединение, содержащее значительную примесь рацемата [586]. Подобно рассмотренным ранее другим методам синтеза пептидов, реакционноспособные амино- и карбоксильные группы боковых цепей аминокислот должны быть соответствующим образом защищены до обработки карбодиимидом. Высказывалось мнение, что ни гидроксильные группы остатков серина, треонина или оксипролина [524, 785], ни основное имидазольное кольцо остатка

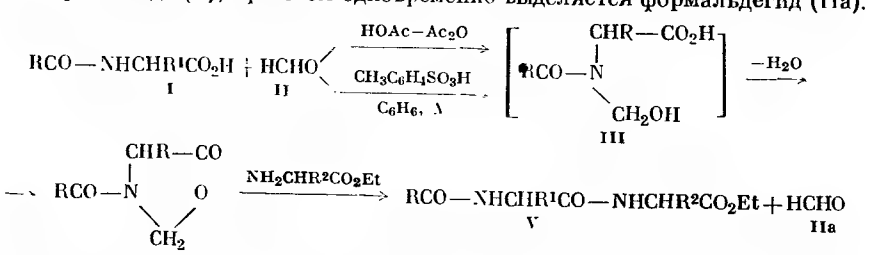
гистидина (ср. с работой [714]) не нуждаются в защите перед конденсацией; таким же преимуществом обладает классический азидный метод (раздел 26). Позднее, однако, было показано, что присутствие в остатках серина незащищенных оксигрупп может привести к образованию значительного количества побочных продуктов (раздел 39).

Родственные методы. Стивенс и Мунк [791а] сообщили, что азотистые аналоги кетенов, структурно близкие карбодиимидам, могут применяться в качестве конденсирующих агентов для создания амидной связи между карбоксильной и аминогруппами. Так, обработка раствора ациламинокислоты (Ia) дифенилкетен-N-*п*-толиламином (XXI) в бензоле, 95%-ном этаноле или водном диоксане приводит к устойчивому аддукту (XXII), который



может быть выделен и очищен кристаллизацией; таким образом были получены аддукты фталилглицина, фталил-β-аланина, фталил-DL-метионина и карбобензоксиглицина, плавящиеся при 179,5—180,5; 121,5—122,5; 135—136 и 166—167° соответственно. Взаимодействие этих аддуктов с соответствующим амином, например с эфиром аминокислоты, в среде кипящего бензола или хлористого метилена приводит к нужному производному пептида (IVa), а также легко отделяемому побочному продукту — *п*-толуидиду дифенилуксусной кислоты (XXIII).

37. Метод N-ацил-5-оксазолидонов. *Принцип.* N-Ацил-5-оксазолидоны (IV) могут быть получены или а) обработкой соответствующей N-ациламинокислоты (I) формальдегидом (II) в смеси уксусной кислоты с уксусным ангидридом при 100°, или б) путем азеотропной отгонки воды из бензольного раствора ациламинокислоты (I), формальдегида (II) и *п*-толуолсульфокислоты. По-видимому, такие соединения образуются через промежуточные N-оксиметильные производные ациламинокислот (III), которые в свою очередь легко претерпевают внутримолекулярную циклизацию, сопровождающуюся отщеплением молекулы воды. Действие на N-ацил-5-оксазолидоны соответствующего амина, например эфира аминокислоты, в среде какого-либо растворителя или без растворителя приводит затем к нужному производному пептида (V); при этом одновременно выделяется формальдегид (IIa).

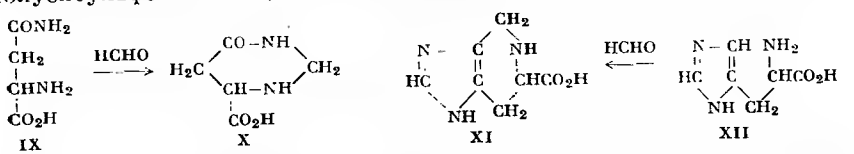


Общие соображения и экспериментальные условия. При действии на первичные амиды (VI) формальдегида (IIб) или параформа в присутствии кислот

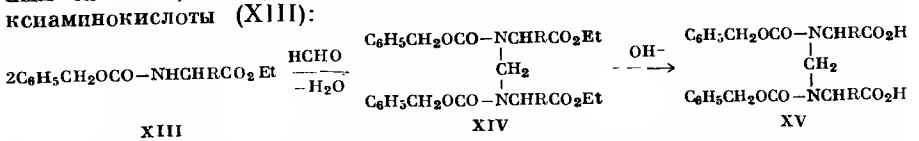
образуются соответствующие метилендиамиды (VII); наличие же в молекуле исходного амида других функциональных групп может привести к циклическим соединениям вследствие образования внутримолекулярного метиле-

$$\underset{\text{VI}}{2RCONH_2} + \underset{\text{IIб}}{HCHO} \xrightarrow{H^+} \underset{\text{VII}}{RCONH{-}CH_2{-}NHCOR} + \underset{\text{VIII}}{H_2O}$$

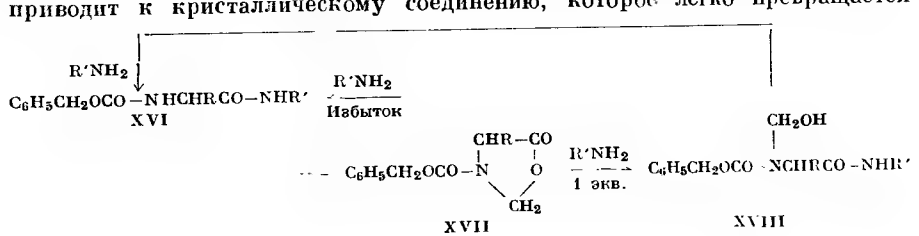
нового мостика (ср. с работой [792]). В качестве примера можно привести тот факт, что при взаимодействии формальдегида с аспарагином (IX) и гистидином (XII) получаются циклические соединения (X) и (XI) соответственно. Основываясь на реакциях такого типа, Бен-Ишай [793] в 1957 г. предпринял изучение действия формальдегида на различные ациламинокислоты. Так, при кипячении с обратным холодильником бензольного раствора карбобензоксиаминокислоты (I; R = $C_6H_5CH_2O$) и параформа в присутствии *п*-толуолсульфокислоты (в качестве катализатора) были получены два кри-



сталлических соединения, одно нейтральной, а другое кислой природы. Первое из них, судя по данным элементарного анализа и ИК-спектра, оказалось N-карбобензокси-5-оксазолидоном (IV; R = $C_6H_5CH_2O$), а второе — метилен-*бис*-карбобензоксиаминокислотой (XV), что было показано встречным синтезом, исходя из этилового эфира соответствующей карбобензоксиаминокислоты (XIII):



Полученные из оптически активных карбобензоксиаминокислот оксазолидоны имели большое удельное вращение и после обработки избытком раствора аммиака в этаноле превращались без рацемизации в соответствующие амиды карбобензоксиаминокислот. Детали эксперимента как для получения N-карбобензокси-5-оксазолидонов (методика 88), так и для синтеза амидов карбобензоксиаминокислот с помощью этих соединений (методика 89) приведены ниже. В этой связи заслуживает упоминания тот факт, что в то время, как при обработке N-карбобензокси-5-оксазолидона (XVII; R = H) избытком бензиламина в этаноле при комнатной температуре уже через несколько часов образуется с хорошим выходом соответствующий бензиламид карбобензоксиаминокислоты (XVI; R = H, R′ = $C_6H_5CH_2$), обработка того же соединения (XVII) в тех же условиях одним молем бензиламина приводит к кристаллическому соединению, которое легко превращается

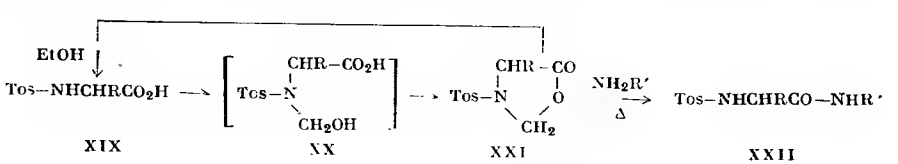


в XVI при дальнейшем действии аммиака или бензиламина; этому соединению была приписана структура бензиламида N-метилол-N-карбобензоксиглицина (XVIII; R = H, R′ = $C_6H_5CH_2$), что подтверждается данными анализа, ИК-спектра, а также тем фактом, что при каталитическом гидрогенолизе этого соединения образуется бензиламид саркозина.

Типичная методика 88 [793]. N-карбобензокси-5-оксазолидоны. Смесь 0,025 моля соответствующей карбобензоксиаминокислоты (раздел 14), 1 *г* параформа и 250 *мг* *п*-толуолсульфокислоты в 200 *мл* бензола кипятят в течение 30 *мин*, удаляя выделяющуюся воду с помощью прибора Дина — Старка (см. рис. 26, стр. 439). Бензольный раствор промывают 5%-ным водным раствором бикарбоната калия, высушивают безводным сульфатом натрия и растворитель отгоняют в вакууме. После перекристаллизации остатка из петролейного эфира или смеси бензола с петролейным эфиром получают чистый N-карбобензокси-4-оксазолидон. Таким образом с выходом от 40 до 80% были получены соответствующие производные глицина (т. пл. 84°), DL-аланина (т. пл. 65°), L-лейцина (т. пл. 63°; $[\alpha]_D^{20}$ +108°, в хлороформе), L-фенилаланина (т. пл. 83°; $[\alpha]_D^{20}$ +212°, в хлороформе) и L-валина (т. пл. 54°; $[\alpha]_D^{20}$ +95°, в хлороформе).

Типичная методика 89 [793]. Амид карбобензокси-L-фенилаланина. Раствор 3,11 *г* N-карбобензокси-L-4-бензил-5-оксазолидона (методика 88) в смеси 25 *мл* этанола и 3 *мл* концентрированного водного аммиака оставляют на 5 *час* при комнатной температуре; растворитель отгоняют в вакууме и остаток перекристаллизовывают из смеси этилацетата с петролейным эфиром: выход 2,5 *г* (83%); т. пл. 167°; $[\alpha]_D^{20}$ +12,0° (1%, в хлороформе).

Примерно в то же самое время, когда Бен-Ишай [793] опубликовал работы по изучению N-ацил-5-оксазолидонов, независимо от него Михель и Томас [794] разработали другой метод синтеза этого класса соединений. Так, действие формальдегида при 100° под давлением на раствор N-тозиламинокислоты (XIX) в смеси ледяной уксусной кислоты с уксусным ангидридом приводит к соответствующему N-тозил-5-оксазолидону (XXI) (методика 90), вероятно, через промежуточное N-оксиметильное производное ациламинокислоты (XX). Обработка N-тозил-5-оксазолидона соответствующим амином или эфиром аминокислоты при нагревании в отсутствие растворителя приводит к соответствующим амидам N-тозиламинокислот (XXII) (методика 91). Однако взаимодействие оксазолидона со спиртом происходит не так, как этого можно было бы ожидать. В то время как оксазолидоновое производное аланина достаточно устойчиво к действию спиртов, в связи с чем его можно без опасений перекристаллизовывать из этанола или изопропанола, соответствующее производное глицина (XXI; R = H) при продолжительном нагревании в этаноле разлагается; при этом, однако, образуется не этиловый эфир тозилглицина, а исходная ациламинокислота (XIX), причем расщепление идет в отсутствие воды. Хотя механизм этой реакции еще не выяснен он, по всей вероятности, отличается от механизма расщепления оксазолидонов аминами.

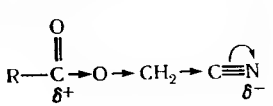


Типичная методика 90 [794]. N-*п*-Тозил-5-оксазолидон. 10 *г* N-тозилглицина (методики 25 и 26) растворяют при слабом нагревании в 50 *мл* ледяной уксусной кислоты, к раствору добавляют 39,0 *мл* уксусного ангидрида и 6,9 *мл* 35%-ного формалина и реакционную смесь нагревают в течение 3 *час* при 100° в запаянном сосуде. После охлаждения приливают 1 *мл* концентрированной серной кислоты и реакционную смесь нагревают 30 *мин* при 95—100°. К слегка желтоватому раствору добавляют 3,5 *г* безводного ацетата натрия и смесь выпаривают в вакууме досуха. Оставшееся масло нейтрализуют концентрированным раствором бикарбоната натрия, белый осадок отфильтровывают, дважды промывают раствором бикарбоната натрия и несколько раз водой и высушивают; выход 5,4 *г* (51%). Вещество перекристаллизовывают из смеси бензола с петролейным эфиром; т. пл. 119—120°. Точно таким же образом из тозил-DL-аланина получают N-*п*-тозил-DL-4-метил-5-оксазолидон, т. пл. 104—105°.

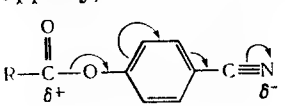
Типичная методика 91 [794]. N-Тозилглицилглицин. Смесь 1,5 *г* N-*п*-тозил-5-оксазолидона и 1,24 *мл* этилового эфира глицина (выделенного из хлоргидрата) нагревают в течение 10 *мин* при 100°. Реакционную смесь охлаждают, остаток растворяют в 6,8 *мл* метанола и раствор обрабатывают 6,8 *мл* 2 н. раствора едкого натра. Смесь оставляют на 1 *час*, подкисляют соляной кислотой до pH 6 и раствор упаривают в вакууме. Полукристаллический остаток растворяют в минимальном количестве воды, добавляют соляную кислоту до pH 1—2 и выделившееся масло закристаллизовывают с помощью потирания стеклянной палочкой о стенки сосуда. Твердый продукт реакции (1,62 *г*) несколько раз перекристаллизовывают из воды; т. пл. 178—179°.

Область применения и ограничения. До настоящего времени N-ацил-5-оксазолидоны не применялись для синтеза пептидов в такой степени, чтобы можно было правильно оценить их практическую ценность как реакционноспособных промежуточных соединений. Все же имеющиеся сейчас немногие данные свидетельствуют о том, что широкое применение этих соединений будет связано со значительными затруднениями, связанными, в частности, со способностью формальдегида реагировать с рядом функциональных групп, которые не участвуют в реакции конденсации, но часто присутствуют в молекулах исходных веществ. К этому нужно также добавить необходимость выделения этих промежуточных соединений перед конденсацией с амином, что, как правило, не является обязательным в случае большинства других современных методов синтеза пептидов.

38. Метод активированных эфиров. *Принцип.* Некоторые сложные эфиры карбоновых кислот вследствие наличия в спиртовой компоненте сложноэфирной группы электроотрицательного заместителя могут обладать достаточно высокой реакционной способностью как ацилирующие агенты и, таким образом, служить ценными промежуточными веществами в синтезе пептидов. Если такой сложный эфир имеет алифатическую природу, то активирующее влияние электроотрицательного заместителя может быть приписано, по существу, только индуктивному эффекту, как это имеет место,



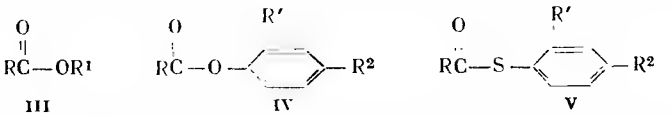
I



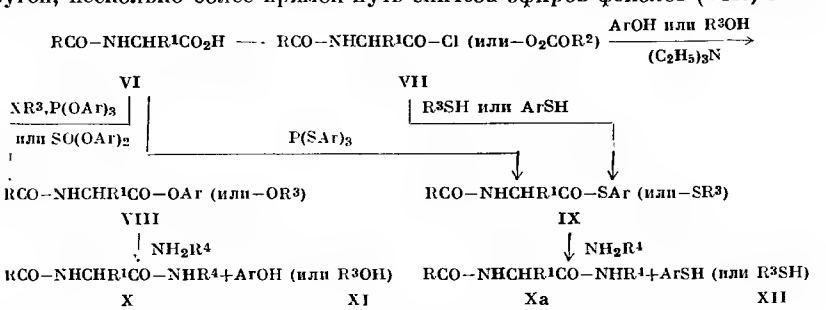
II

например, в случае цианметиловых эфиров (I), в то время как реакционная способность ароматических сложных эфиров, имеющих электроотрицательные заместители в *орто-* или *пара*-положении, например *п*-цианфениловых эфиров (II), объясняется, по-видимому, электромерным эффектом.

Во всяком случае, сложные эфиры, молекулы которых содержат цианметильную (III; $R^1 = CH_2CN$), карбэтоксиметильную (III; $R^1 = CH_2CO_2C_2H_5$) или метоксиметильную (III; $R^1 = CH_2OCH_3$) группы, а также ароматические сложные эфиры, имеющие *о*-нитрофенильный (IV; $R^1 = NO_2$; $R^2 = H$),



п-нитрофенильный (IV; $R^1 = H$, $R^2 = NO_2$), *п*-карбометоксифенильный (IV; $R^1 = H$, $R^2 = CH_3OCO$) или какой-либо другой подобный заместитель, весьма легко подвергаются аминолизу при действии соответствующего амина. Чрезвычайно легко вступают в такие реакции эфиры фенола (IV; $R^1 = R^2 = H$) и тиофенола (V; $R^1 = R^2 = H$) и особенно их производные, имеющие в *орто-* или *пара*-положении электроотрицательные заместители. Аминолиз активированного эфира ациламинокислоты (VIII и IX) аминокислотой, пептидом или их эфирами проводится или в органической, или в водной среде при комнатной температуре, хотя в некоторых случаях требуется более высокая температура; при этом образуется нужное производное пептида (X и Xa) и выделяется соответствующий спирт или фенол (XI и XII). Соответствующие реакционноспособные эфиры алифатических спиртов (VIII; R^3 = алкил) могут быть получены действием соответствующего галоидного алкила (XR^3), например $ClCH_2CN$, $BrCH_2CO_2C_2H_5$ или $ClCH_2OCH_3$, на карбоновую кислоту (VI) в присутствии третичного амина в среде инертного органического растворителя или без растворителя; с другой стороны, эфиры фенолов (VIII; Ar = арил) или тиофенолов (IX; Ar = арил) получают обычно путем превращения карбоновой кислоты в соответствующий смешанный ангидрид с алкилугольной кислотой (раздел 29) или в хлорангидрид (VII) (раздел 27) с последующей их обработкой фенолом или тиофенолом. Другой, несколько более прямой путь синтеза эфиров фенолов (VIII) заклю-



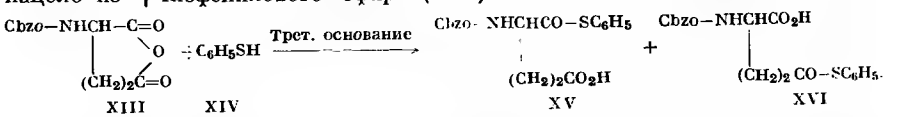
чается в действии диарилсульфита ($SO(OAr)_2$) или триарилфосфита ($P(OAr)_3$) на пиридиновый раствор соответствующей карбоновой кислоты (VI); в качестве этерифицирующего агента могут также применяться триарилтритиофосфиты ($P(SAr)_3$), которые при взаимодействии с кислотой в пиридиновом или диметилформамидном растворе образуют соответствующие эфиры тиофенолов (IX).

Общие соображения и экспериментальные условия. Ранее уже упоминалось о безуспешных попытках Э. Фишера и его современников использовать аминолиз метиловых и этиловых эфиров ациламинокислот и ацилпептидов в качестве метода для контролируемого ступенчатого синтеза пептидов (раздел 4). В 1951 г. Виландом, Шефером и Бокельманом [795] было показано, что для этой цели с успехом могут быть применены значительно более реакционноспособные тиофениловые эфиры ацилированных аминокислот (IX; Ar = C_6H_5) и пептидов. Соответствующие тиофениловые эфиры (IX) получены действием алкилхлоркарбоната на охлажденный раствор ациламинокислоты (VI) (или ацилпептида) и третичного амина с последующей обработкой образовавшегося смешанного ангидрида ациламинокислоты и алкилугольной кислоты (VII) тиофенолом без выделения (методика 92); эта реакция проводится обычно в среде инертного сухого органического растворителя, например тетрагидрофурана, хлороформа или этилацетата, и требует соблюдения всех тех предосторожностей и ограничений, что и другие реакции конденсации, осуществляемые с помощью смешанных ангидридов (разделы 28 и 29). Хотя данный метод требует предварительного получения реакционного промежуточного соединения, а именно смешанного ангидрида с алкилугольной кислотой, которое само может быть использовано для синтеза пептидов, тем не менее тиофениловые эфиры обладают некоторыми преимуществами, которые в ряде случаев делают их применение весьма желательным. Так, тиофениловые эфиры ациламинокислот и ацилпептидов обычно могут быть получены в кристаллическом состоянии, обладают резкими температурами плавления, при продолжительном хранении при комнатной температуре не разлагаются в сколько-нибудь заметной степени и очень устойчивы к сольволитическому действию кипящей воды, спирта и разбавленных кислот. Хотя активированные эфиры медленно омыляются теплыми водными растворами щелочей, в присутствии какого-либо амина реакция аминолиза протекает с гораздо большей скоростью, ввиду чего в водно-щелочной среде преимущественно идет реакция конденсации, а не гидролиза (методика 93); аналогичная реакция может быть также проведена в спиртовой среде с солями щелочных металлов аминокислот или пептидов без опасности одновременной этерификации. Так, например, при кипячении смеси тиофенилового эфира карбобензоксиглицина с натриевой солью DL-аланина в метаноле или в водной щелочи образуется карбобензоксиглицил-DL-аланин [795]. Следует отметить, что хотя аминолиз активированных эфиров такого типа происходит достаточно легко, все же эта реакция требует более длительного времени и более жестких температурных условий, чем аналогичные реакции с участием более реакционноспособных хлорангидридов, смешанных ангидридов или азидов.

Типичная методика 92 [170]. Тиофениловый эфир карбобензоксиглицилглицина. К смеси 5,32 *г* карбобензоксиглицилглицина, 2,8 *мл* N-этилпиперидина и 20 *мл* сухого тетрагидрофурана добавляют при 0° 2 *мл* этилового эфира хлоругольной кислоты. Смесь выдерживают 15 *мин* при 0°, к полукристаллической массе добавляют 2 *мл* тиофенола и реакционную смесь оставляют на 4 *час* при комнатной температуре. Кристаллы отфильтровывают, промывают небольшим количеством тетрагидрофурана и объединенные фильтрат и промывные воды выпаривают в вакууме досуха. Твердый остаток перекристаллизовывают из 200 *мл* бензола; получают 5,0 *г* (70%) вещества с т. пл. 117°. Аналогичная методика может быть использована для получения тиофениловых эфиров других ациламинокислот и ацилпептидов; температуры плавления этих соединений приведены в табл. 91 (стр. 525).

Типичная методика 93 [170]. Карбобензоксиглицилглицил-L-пролин. К раствору 3,6 *г* тиофенилового эфира карбобензоксиглицилглицина (методика 92) в 40 *мл* тетрагидрофурана добавляют раствор 1,15 *г* L-пролина в 10 *мл* 1 н. раствора едкого натра, смесь разбавляют метанолом до гомогенизации и нагревают с обратным холодильником при 65° в течение 4 *час*. Реакционную смесь концентрируют в вакууме, экстрагируют эфиром для удаления тиофенола и затем подкисляют. Выделившееся масло закристаллизовывают, растирая его стеклянной палочкой при охлаждении; выход 3 *г* (82%). После перекристаллизации из этилацетата т. пл. 137°.

В связи с изложенным выше интересно отметить, что Виландом и Вайденмюллером [481] при действии тиофенола (XIV) на смесь ангидрида карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (XIII) и третичного основания в среде инертного органического растворителя были получены α- (XV) и γ-тиофениловый (XVI) эфиры карбобензокси-L-глутаминовой кислоты. Реакция приводит к смеси α- и γ-тиоэфиров, соотношение которых в значительной степени зависит как от природы растворителя, так и от природы третичного основания. Так, при проведении реакции в тетрагидрофуране в присутствии пиридина α- и γ-тиоэфиры образуются в соотношении 2 : 1, в то время как применение в качестве основания триэтиламина при прочих одинаковых условиях приводит к изменению этого соотношения до 1:4,5; чистые α- и γ-тиоэфиры могут быть выделены из соответствующей реакционной смеси путем перекристаллизации сырого продукта реакции из подходящего растворителя (методики 94 и 95). При использовании формамида вместо тетрагидрофурана в качестве растворителя и триэтиламина в качестве основания образуется полностью рацемический продукт реакции, состоящий почти нацело из γ-тиофенилового эфира (XVI). Аналогично, чистый γ-тиофени-



ловый эфир фталил-L-глутаминовой кислоты может быть получен при взаимодействии ангидрида фталил-L-глутаминовой кислоты с тиофенолом в тетрагидрофуране в присутствии триэтиламина. Следует отметить, что упомянутые выше полутиоэфиры N-ацилглутаминовых кислот, как оказалось, имеют большое значение не только для синтеза α- и γ-глутамилпептидов (методика 96); эти соединения с успехом применялись также для конденсации с такими реагентами, в молекулах которых имеется незащищенная сульфгидрильная группа, например с цистеинилглицином.

Типичная методика 94 [481]. α-Тиофениловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты. К раствору 2,64 *г* ангидрида карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (методика 132) в 20 *мл* тетрагидрофурана добавляют 1,0 *мл* тиофенола и 1,6 *мл* пиридина. Смесь оставляют на 2 дня при комнатной температуре, подкисляют раствором 0,9 *г* безводной щавелевой кислоты в 10 *мл* тетрагидрофурана, выпавшую триэтиламмонневую соль отфильтровывают и фильтрат выпаривают при 20° в вакууме досуха. Остаток растворяют в 20 *мл* абсолютного эфира, эфирный раствор фильтруют, к фильтрату добавляют 10 *мл* петролейного эфира, оставляют на 3 *час* при 0° и выпавшие кристаллы отфильтровывают. Получают 1,8 *г* (48%) нужного соединения; т. пл. 111—113°; $[\alpha]_D^{20}$ —25,5° (2%, в диоксане).

Типичная методика 95 [481]. γ-Тиофениловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты. Реакцию проводят в тех же условиях и с теми

же реагентами, что и в эксперименте 94; единственное отличие заключается в том, что вместо пиридина используют 1,4 *мл* триэтиламина. Полученный после упаривания реакционной массы остаток растворяют в 10 *мл* абсолютного эфира, раствор фильтруют, к фильтрату добавляют 2 *мл* петролейного эфира и оставляют на 3 *час* на холоду. Выпавшие кристаллы отфильтровывают и перекристаллизовывают из смеси этилацетата с петролейным эфиром; выход 0,5 *г* (13.5%); т. пл. 129—131°; $[\alpha]_D^{19}$ +3,5° (8,5%, в диоксане).

Типичная методика 96 [481]. Карбобензокси-L-глутамин. Через раствор 0,2 *г* γ-тиофенилового эфира карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (методика 95) в 5 *мл* тетрагидрофурана при охлаждении до 0° пропускают ток сухого аммиака. Выделившееся масло промывают эфиром, растворяют в 1 *мл* воды и водный раствор обрабатывают 0,5 *мл* 2 н. соляной кислоты. Выделившееся масло быстро кристаллизуется при охлаждении и растирании стеклянной палочкой; выход 0,09 *г* (65%); т. пл. 134°.

В опубликованной в 1948 г. работе Гордона, Миллера и Дея [796] указывалось, что относительные скорости аминолиза различных сложных эфиров данной алифатической кислоты возрастают в следующем ряду (указан радикал соответствующего спирта): фенил > винил > метил > бензил > > этил. Относительно высокая реакционная способность фениловых эфиров побудила Боданского [797] изучить влияние нитрогруппы, находящейся в *орто*-, *мета*- и *пара*-положениях, на скорость аминолиза различных фениловых эфиров фталилглицина этиловым эфиром глицина в среде кипящего бензола. В этих условиях через 20 *мин* образовалось не менее 90% этилового эфира фталилглицилглицина в случае применения *орто*-, *мета*- или *пара*-нитрофениловых эфиров, в то время как незамещенный фениловый эфир претерпевал аминолиз лишь на 26,5%; в аналогичных условиях из тиофенилового эфира фталилглицина образуется 47,5% соответствующего пептида. Эти данные говорят о том, что реакционная способность тиофениловых эфиров значительно выше, чем у соответствующих незамещенных О-фениловых эфиров, но все же ниже реакционной способности различных нитрофениловых эфиров. Во всяком случае, ярко выраженная чувствительность нитрофениловых эфиров к аминолизу свидетельствовала о возможности их применения для синтеза пептидов; с целью проверки этого предположения Боданский [797] и его сотрудники [798] синтезировали ряд соединений указанного типа.

Изучавшиеся Боданским [797] фениловые и нитрофениловые эфиры были получены путем нагревания смеси фенола или нитрофенола с хлорангидридом соответствующей ациламинокислоты в отсутствие растворителя или со смешанным ангидридом ациламинокислоты в среде хлороформа или тетрагидрофурана (методика 97). Изелин, Риттель, Зибер и Швицер [799] разработали другой, более прямой метод получения этих, а также ряда других замещенных фениловых эфиров, основанный на применении в качестве этерифицирующих агентов диарилсульфитов (XX) и триарилфосфитов (XXIII). Последние были получены путем медленного добавления по каплям триэтиламина (XIX) или пиридина к раствору замещенного фенола (XVIII и XVIIIa) и хлористого тионила (XVII) или треххлористого фосфора (XXII) в инерт-

$$\underset{\text{XVII}}{SOCl_2} + \underset{\text{XVIII}}{2ArOH} + \underset{\text{XIX}}{2N(C_2H_5)_3} \longrightarrow \underset{\text{XX}}{SO(OAr)_2} + \underset{\text{XXI}}{2(C_2H_5)_3N\cdot HCl}$$

$$\underset{\text{XXII}}{PCl_3} + \underset{\text{XVIIIa}}{2ArOH} + \underset{\text{XIXa}}{3N(C_2H_5)_3} \longrightarrow \underset{\text{XXIII}}{P(OAr)_3} + \underset{\text{XXIa}}{3(C_2H_5)_3N\cdot HCl}$$

Таблица 90

Некоторые диарилсульфиты ($SO(OAr)_2$) и триарилфосфиты ($P(OAr)_3$) [799]

Арильная группа	Температура плавления или температура кипения, °C	
	диарилсульфит	триарилфосфит
	172—174/11 *мм*	129—130/0,01 *мм*
	90—92	91
OCH_3	78—79	97
OCH_3, CO_2CH_3	97—99	—
	181—183/0,07 *мм*	—
CO_2CH_3	90 [a]	—
$N(CH_3)_2$	58	71
$C\equiv N$	97 [a]	129—130
SO_2CH_3	146—149 [a]	185—188
NO_2	98—100	170—171

[a] Данные для неочищенного соединения.

ном органическом растворителе (методика 98). Полученные таким образом различные симметричные диарилсульфиты и триарилфосфиты перечислены в табл. 90. Реакция этих соединений с карбоновыми кислотами, приводящая к образованию нужных активированных эфиров карбоновых кислот, проводилась или в пиридиновом растворе при комнатной температуре (время реакции — 2—3 *час*), или в среде инертного органического растворителя, например этилацетата, в присутствии пиридина (методика 99). Из 1 моля симметричного диарилсульфита (XXa) или триарилфосфита (XXIIIa) при реакции с карбоновой кислотой (XXIV и XXIVa) образуется соответственно 1 или 2 моля нужного соединения (XXV и XXVa):

$$\underset{\text{XXIV}}{RCO_2H} + \underset{\text{XXa}}{SO(OAr)_2} \xrightarrow{\text{Пиридин}} \underset{\text{XXV}}{RCO_2Ar} + \underset{\text{XXVI}}{SO_2} + \underset{\text{XVIIIб}}{ArOH}$$

$$\underset{\text{XXIVa}}{2RCO_2H} + \underset{\text{XXIIIa}}{P(OAr)_3} \xrightarrow{\text{Пиридин}} \underset{\text{XXVa}}{2RCO_2Ar} + \underset{\text{XXVII}}{ArO-PH(=O)OH}$$

Конденсация О-фениловых эфиров ациламинокислот или ацилпептидов с соответствующими аминами проводится в водной или неводной среде в условиях, не отличающихся от описанных выше условий конденсации соответствующих тиофениловых эфиров (методика 100).

Типичная методика 97 [797]. *п*-Нитрофениловый эфир карбобензокси-S-бензил-L-цистеина. К охлажденному до 0° раствору 0,01 моля карбобензокси-S-бензил-L-цистеина (см. методики 28 и 30) и 0,01 моля триэтиламина в 10 *мл* хлороформа добавляют 0,01 моля этилового эфира хлоругольной кислоты. Приблизительно через 8 *мин* реакционную смесь обрабатывают 0,01 моля *п*-нитрофенола и затем кипятят 1—2 *мин*. Раствор упаривают в вакууме и остаток перекристаллизовывают из метанола; выход 66,5%; т. пл. 84—86°. Используя соответствующие реагенты, аналогично получают фениловый, тиофениловый, *о*-, *м*- и *п*-нитрофениловые и 2,4-динитрофениловый эфиры фталилглицина, *п*-нитрофениловые эфиры карбобензоксиглицина, фталил-L-аланина, фталил-D-лейцина и фталил-L-лейцина, *о*-, *м*- и *п*-нитрофениловые эфиры карбобензокси-S-бензил-L-цистеина и др. В табл. 91 приведены температуры плавления соответствующих соединений.

Типичная методика 98 [799]. Ди-*п*-нитрофенилсульфит. К смеси 4,13 *г* (0,029 моля) *п*-нитрофенола и 1,06 *мл* (0,0146 моля) хлористого тионила в 25 *мл* абсолютного эфира при постоянном перемешивании и охлаждении в бане со льдом медленно добавляют раствор 4,8 *мл* (0,035 моля) триэтиламина в 15 *мл* абсолютного эфира. Смесь перемешивают еще 1 *час*, выпаривают досуха в токе сухого воздуха, остаток тщательно промывают водой, высушивают и перекристаллизовывают из смеси ацетона с эфиром; т. пл. 98—100°.

Типичная методика 99 [799]. *п*-Нитрофениловый эфир карбобензоксиглицина. К раствору 209 *мг* (0,001 моля) карбобензоксиглицина (методика 28) в смеси 2 *мл* этилацетата и 0,16 *мл* (0,002 моля) пиридина добавляют 324 *мг* (0,001 моля) ди-*п*-нитрофенилсульфита (методика 98). Смесь нагревают 3 *час* при 50°, затем охлаждают до 0°, промывают последовательно 2 н. соляной кислотой, насыщенным раствором бикарбоната натрия, водой и высушивают сульфатом натрия. Раствор выпаривают досуха, а кристаллический остаток перекристаллизовывают из этанола; выход 315 *мг* (95%); т. пл. 124—125°.

Типичная методика 100 [798]. Фталилглицил-L-аспарагин. К раствору 1,63 *г* *п*-нитрофенилового эфира фталилглицина (см. методику 97) в смеси 15 *мл* диоксана и 5 *мл* воды при нагревании на паровой бане добавляют последовательно 0,80 *г* L-аспарагина (моногидрата) и затем несколькими порциями в течение 5 *мин* 0,70 *мл* триэтиламина; в процессе реакции образуется гомогенный раствор. Смесь нагревают еще 5 *мин* и добавляют 10 *мл* воды. Раствор охлаждают, добавляют 8 *мл* 1 н. соляной кислоты и 60 *мл* воды, выпавший осадок отфильтровывают, трижды промывают водой порциями по 10 *мл* и высушивают; выход 1,02 *г* (63,5%); т. пл. 206—208°. После одной перекристаллизации из воды т. пл. 210°.

Недавно Фаррингтоном, Хексталлом, Кеннером и Тернером [800] был описан удобный метод этерификации ациламинокислот (XXIVб) и ацилпептидов с помощью три-*п*-нитрофенилтритиофосфита (XXVIII) в среде пиридина или диметилформамида при комнатной температуре; соответствующие *п*-нитротиофениловые эфиры (XXIX) были выделены с отличным выходом.

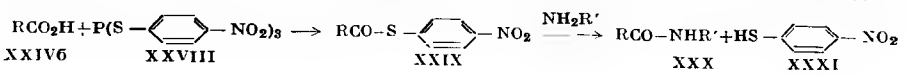


Таблица 91

Активированные эфиры

Активированный эфир	Температура плавления, °С	Литература
Cbzo-DL-CySBz-OCH_2CN	102—103	804
Cbzo-L-CySBz-OCH_2CN	67—68 [а]	804
Cbzo-L-CySBz-SC_6H_5	100	390
Cbzo-L-CySBz-O—C6H4—NO_2	80	797
Cbzo-L-CySBz-O—C6H4—O_2N	101—102	797
Cbzo-L-CySBz-O—C6H4—NO_2	89—91	797, 799
Cbzo-L-CySBz-Gly-SC_6H_5	102 [б]	390
Cbzo-L-CySBz-Gly-Gly-SC_6H_5	105—106 [в]	390
Cbzo-L-CySBz-L-Tyr-OCH_2CN	114—115 [г]	804
Cbzo-L-Glu-SC_6H_5	111—113 [д]	481
Cbzo-DL-Glu-OH └ SC_6H_5	129—130	481
Cbzo-L-Glu-OH └ SC_6H_5	129—131 [е]	481
Cbzo-L-Glu-OMe └ L-Glu(OMe)-SC_6H_5	111—112 [ж]	679
Cbzo-Gly-OCH_2CN	70	802
Cbzo-Gly-OC_6H_5	68—70	799
Cbzo-Gly-O—C6H4—CN	94	799
Cbzo-Gly-O—C6H4—CO_2CH_3	70—72	799
Cbzo-Gly-O—C6H4—CO_2CH_3	121	799
Cbzo-Gly-O—C6H4—NO_2	128	797, 799, 800
Cbzo-Gly-O—C6H4—$N(CH_3)_2$	109	799
Cbzo-Gly-O—C10H7	109—110	799
Cbzo-Gly-O—C10H7	87—89	799
Cbzo-Gly-SC_6H_5	72	795
Cbzo-Gly-S—C6H4—NO_2	112,5	800, 811
Cbzo-Gly-SCH_2CO_2H	88,5—89	812
Cbzo-Gly-DL-Ala-Gly—OCH_2CN	145	802

Продолжение табл. 91

Активированный эфир	Температура плавления, °С	Литература
Cbzo-Gly-Gly-O —⟨⟩— NO_2	163—165	799
Cbzo-Gly-Gly-SC_6H_5	117	170
Cbzo-Gly-Gly-Gly-SCH_2CO_2H	175—176	812
Cbzo-Gly-Gly-DL-Phe-O —⟨⟩— SO_2CH_3	90—92	812б
Cbzo-Gly-L-Leu-Gly-OCH_2CN	80—82	812в
Cbzo-Gly-L-Leu-Gly-O —⟨⟩— NO_2	155,5—156,5	812в
Cbzo-Gly-L-Leu-Gly-S —⟨⟩— NO_2	159	800
Cbzo-Gly-L-Leu-Gly-Gly-L-Leu-Gly-S —⟨⟩— NO_2	194—195	812а
Cbzo-Gly-L-Leu-Gly-D-Leu-Gly-S —⟨⟩— NO_2	150—152	812а
Cbzo-Gly-L-Leu-Gly-L-Leu-Gly-S —⟨⟩— NO_2	184	*800, 811*
Cbzo-Gly-DL-Phe-SC_6H_5	94	795
Cbzo-Gly-L-Phe-S —⟨⟩— NO_2	154—155 з	800
Cbzo-Gly-DL-Phe-Gly-O —⟨⟩— NO_2	171—172	812б
Cbzo-Gly-DL-Phe-Gly-O —⟨⟩— SO_2CH_3	161—162,5	812б
Cbzo-DL-Leu-OCH_2CN	83—85	805
Cbzo-L-Leu-OCH_2CN	84—85 и	805
Cbzo-L-Leu-O —⟨⟩— NO_2	95	799
Cbzo-DL-Leu-S —⟨⟩— NO_2	98	812а
Cbzo-D-Leu-S —⟨⟩— NO_2	106—107	812а
Cbzo-L-Leu-S —⟨⟩— NO_2	107	800
Cbzo-L-Leu-Gly-S —⟨⟩— NO_2	118	800
Cbzo-L-Leu-D-Phe-OCH_2CN	102—103	719
Cbzo-L-Leu-D-Phe-O —⟨⟩— CN	160	799
Cbzo-L-Leu-D-Phe-O —⟨⟩— NO_2	165—166	799
Cbzo-DL-Phe-O —⟨⟩— CN	88,5—89	812б
O,N-diCbzo-L-Tyr-OCH_2CN	99 к	802
O,N-diCbzo-L-Tyr-$OCH_2CO_2CH_2CH_3$	100 л	802
Cbzo-L-Val-O —⟨⟩— NO_2	63	799
n-NO_2-Cbzo-Gly-OCH_2CN	77—79	677
n-NO_2-Cbzo-DL-Leu-OCH_2CN	68	802
n-NO_2-Cbzo-DL-Leu-OCH_2 —⟨⟩— NO_2	75	802

Продолжение табл. 91

Активированный эфир	Температура плавления, °С	Литература
Phth-β-Ala-OCH_2CN	97	802
Phth-L-Ala-O —⟨⟩— NO_2	127	797
Phth-DL-Glu-OH └ SC_6H_5	184	481
Phth-L-Glu-OH └ SC_6H_5	190—192 м	481
Phth-DL-Glu-$(SC_6H_5)_2$	109—110	481
Phth-DL-Glu-Gly-OH └ SC_6H_5	60—64	481
Phth-Gly-OCH_2CN	132—133,5	677
Phth-Gly-$OCH_2C \equiv CH$	80—82	813
Phth-Gly-OC_6H_5	124—125	797, 799
Phth-Gly-SC_6H_5	103—106	797
Phth-Gly-O —⟨⟩— NO_2	158—160	797
Phth-Gly-O —⟨⟩— O_2N	170—172	797
Phth-Gly-O —⟨⟩— NO_2	180—181,5	797
Phth-Gly-O —⟨⟩— O_2N, NO_2	217	797
Phth-D-Leu-O —⟨⟩— NO_2	82	797
Phth-L-Leu-O —⟨⟩— NO_2	82	797
Tos-Gly-OCH_2CN	94	802
Tos-L-Gly-(NH_2)-OCH_2CN	117 н	802
Tos-DL-Met-OCH_2CN	85	802
Tos-DL-Met-$OCH_2CO_2CH_2CH_3$	—	802
TFA-DL-Ala-OCH_2CN	44—45	814
TFA-L-Ala-OCH_2CN	58—60 о	814
TFA-Gly-OCH_2CN	82—83	814
TFA-Gly-SC_6H_5	80—81,5	569
TFA-Gly-Gly-OCH_2CN	128—129	814
diTFA-L-Lys-OCH_2CN	102—104 п	814
TFA-DL-Phe-OCH_2CN	78—79	814
TFA-L-Phe-OCH_2CN	70—72°	814
TFA-L-Pro-OCH_2CN	Масло с	814
TFA-L-Val-OCH_2CN	44—46 т	806
Tri-Gly-OCH_2CN	90,5—91	799
Tri-Gly-O —⟨⟩	127—128	806
Tri-Gly-Gly-OCH_2CN	157,5	

Продолжение табл. 91

Активированный эфир	Температура плавления, °C	Литература
Tri-Gly-Gly-SC_6H_5	128	546
Tri-Gly-Gly-$SCH_2C_6H_5$	120	546
Tri-Gly-Gly-Gly-OCH_2CN	135,5—136	806
Tri-Gly-Gly-Gly-Gly-OCH_2CN	172,5—173,5	806
Tri-Gly-DL-Met-$SCH_2C_6H_5$	86	546
Tri-Gly-DL-Phe-Gly-OCH_2CN	164—165,5	812б
Tri-L-Val-L-(N^{ε}-Tos-Lys)-L-Leu-D-Phe-L-Pro-O—C_6H_4—NO_2	—	814а
Tri-L-Val-L-(N^{δ}-Tos-Orn)-L-Leu-D-Phe-L-Pro-O—C_6H_4—NO_2	—	814а
H-D-Ala-SC_6H_5·HCl	155—157	815
H-L-Ala-SC_6H_5·HCl	155—157	815
H-β-Ala-SC_6H_5·HCl	140	815
H-Gly-SC_6H_5·HCl	180 (с разл.)	809
H-Gly-S—C_6H_4—NO_2·HBr	194	811
H-Gly-SCH_2CO_2H·HBr	145—146,5	812
H-Gly-Gly-Gly-OCH_2CN·HCl	159—160	806
H-Gly-Gly-Gly-SCH_2CO_2H·HBr	180,5—181	812
H-Gly-Gly-Gly-Gly-OCH_2CN·HCl	155,5—156,5	806
H-Gly-DL-Leu-SC_6H_5·HCl	83—84	810
H-Gly-L-Leu-Gly-O—C_6H_4—NO_2·HBr	112—115	812в
H-Gly-DL-Val-SC_6H_5·HCl	154	810
H-DL-Leu-SC_6H_5·HCl	171—172	809
H-DL-Met-SC_6H_5·HCl	143	809
H-DL-Val-SC_6H_5	65—70	810
H-DL-Val-SC_6H_5·HCl	190 (с разл.)	809

а $[\alpha]_D^{19}$ —23° (4,2%, в хлороформе).
б $[\alpha]_D^{20}$ —14,5° (0,2%, в этаноле).
в $[\alpha]_D^{20}$ 5,8° (0,5%, в этаноле).
г $[\alpha]_D^{23}$ —27° (2%, в уксусной кислоте).
д $[\alpha]_D^{19}$ —25,5° (2%, в диоксане).
е $[\alpha]_D^{19}$ 3,5° (8,5%, в диоксане).
ж $[\alpha]_D^{20}$ 3,6° (3,1%, в тетрагидрофуране).
з $[\alpha]_D^{20}$ —67,0° (4,5%, в диоксане).
и $[\alpha]_D^{23}$ —27,4° (5%, в хлороформе).
к $[\alpha]_D$ 2° (в хлороформе)
л $[\alpha]_D$ 3° (в хлороформе).
м $[\alpha]_D^{18}$ —18° (4%, в диоксане)
н $[\alpha]_D$ —21° (в ацетоне).
о $[\alpha]_D^{21}$ —74° (2,3%, в этаноле).
п $[\alpha]_D^{21}$ —33,5° (1,8%, в этаноле).
р $[\alpha]_D^{21}$ —20,8° (1,8%, в этаноле).
с $[\alpha]_D^{21}$ —86,6° (3,3%, в этаноле).
т $[\alpha]_D^{21}$ —56,8° (1,9%, в этаноле).

Такие соединения более чувствительны к аминолизу (XXIX → XXX), чем незамещенные тиофениловые эфиры; на это указывает тот факт, что *п*-нитротиофениловые эфиры легко подвергаются аминолизу уже при комнатной температуре, в то время как в случае их незамещенных аналогов обычно требуется повышенная температура. Так, например, соотношение скоро-

стей аминолиза *п*-нитрофенилового, тиофенилового и *п*-нитротиофенилового эфиров карбобензоксиглицина аланином в водном диоксане при 21° равно 16 : 1 : 140. Следует особо подчеркнуть, что реакционная способность *п*-нитротиофенилового эфира в девять раз выше реакционной способности соответствующего О-фенилового эфира.

В 1955 г. Швицером, Изелином и Фойером [801] было показано, что введение электроноакцепторных заместителей в метильную группу метилового эфира гиппуровой кислоты способствует активированию этих сложных эфиров, что позволяет применять их в качестве ацилирующих агентов. По приведенной ниже схеме был получен ряд активированных эфиров гиппуровой кислоты:

$$\underset{\text{XXXII}}{C_6H_5CO{-}NHCH_2CO_2H} + \underset{\text{XXXIII}}{RX} \xrightarrow[\Delta,\ EtOAc]{(C_2H_5)_3N} \underset{\text{XXXIV}}{C_6H_5CO{-}NHCH_2CO_2R} + \underset{\text{XXXV}}{(C_2H_5)_3N{\cdot}HX}$$

Здесь RX может быть равно $ClCH_2CN$, $BrCH_2CO_2Et$, $BrCH(CO_2Et)_2$, $ClCH_2OCH_3$, $ClCH_2$—C_6H_4—NO_2, $ClCH_2COCH_3$ или $ClCH_2CH_2N(Et)_2$.

Полученные таким образом активированные эфиры по своей реакционной способности в реакции с бензиламином в среде сухого этилацетата располагаются в следующий ряд:

$$-CH_2CN > -CH(CO_2Et)_2 > -CH_2CO_2Et > -CH_2OCH_3 > -CH_2-C_6H_4-NO_2 > -CH_2COCH_3 > -CH_3$$

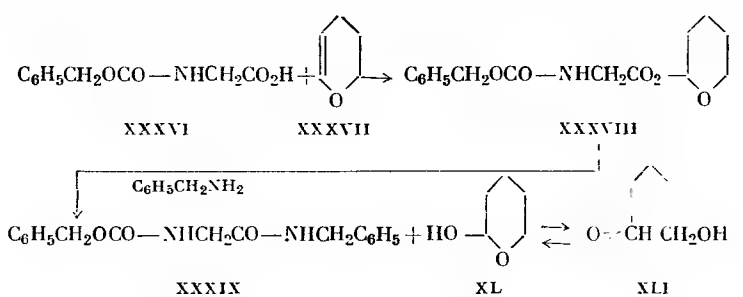
Немалую роль в этой реакции играет также природа растворителя; так, использование вместо сухого этилацетата диоксана, ацетонитрила, насыщенного водой этилацетата, бензола, хлороформа, водного этанола (1 : 1) или смеси диметилформамида с водой (2 : 3) привело к заметному уменьшению общего выхода. Основываясь на этих данных, Швицер и сотрудники [802—806] исследовали далее возможность практического применения цианметиловых эфиров ацилированных аминокислот и пептидов как промежуточных соединений для синтеза соответствующих амидов из аминов и из эфиров аминокислот и пептидов. При использовании в качестве растворителя этилацетата, ацетонитрила или тетрагидрофурана реакция действительно легко протекает уже при комнатной температуре и заканчивается через 0,5—48 *час*; показано также, что заметный каталитический эффект на скорость реакции (методика 102) оказывает добавление небольшого количества кислоты, например уксусной или серной, а также третичного основания, например триэтиламина; благоприятное влияние на скорость гидролиза оказывает также высокая концентрация реагентов. Удобный метод получения реакционноспособных цианметиловых эфиров заключается в прямом взаимодействии карбоновой кислоты с избытком хлорацетонитрила и триэтиламина без растворителя (методика 101); эти эфиры могут быть легко выделены в кристаллическом состоянии (см. табл. 91, стр. 525) и весьма устойчивы при продолжительном хранении при комнатной температуре.

Типичная методика 101 [806]. Цианметиловый эфир тритритилглицина. Смесь 50 *г* глицина (методики 36 и 37), 69 *мл* триэтиламина и 43 *мл* хлорацетонитрила перемешивают при 0° до растворения. Затем смесь медленно нагревают до 40° и время от времени охлаждают, чтобы повышающаяся за счет экзотермической реакции температура не превышала 45°. Хотя реакция практически заканчивается через 40 *мин*, смесь нагревают еще 2 *час* при 45°. Реакционную смесь растворяют в этилацетате, раствор промывают

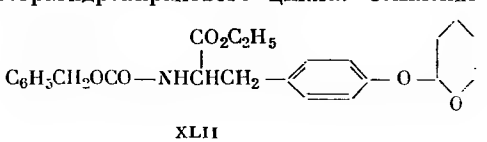
последовательно водой, раствором лимонной кислоты, разбавленным раствором бикарбоната натрия, насыщенным раствором хлористого натрия и высушивают безводным сульфатом натрия. Этилацетат отгоняют в вакууме, а остаток растворяют в 150 *мл* эфира и продукт реакции высаживают 150 *мл* петролейного эфира; выход 54,5 *г* (98%).

Типичная методика 102 [806]. Этиловый эфир тритилглицилглицина. Смесь 20 *г* цианметилового эфира тритилглицина (методика 101), 20 *мл* триэтиламина, 6 капель ледяной уксусной кислоты и 20 *г* хлоргидрата этилового эфира глицина в 80 *мл* тетрагидрофурана нагревают 1 *час* при 60°. Реакционную смесь выливают в 500 *мл* воды, выпавший осадок отфильтровывают на воронке Бюхнера, тщательно промывают водой и высушивают в вакууме над гранулированным едким натром; выход 22.3 *г* (98%).

Исследуя возможность применения различных сложных эфиров для синтеза пептидов, Изелин и Швицер [807] изучили реакции 2-тетрагидропиранилового эфира карбобензоксиглицина, т. пл. 96—98°. Это реакционноспособное промежуточное соединение (XXXVIII), легко образующееся путем присоединения дигидропирана (XXXVII) к ациламинокислоте (XXXVI), при конденсации с бензиламином давало, как и следовало ожидать, соответствующий бензиламид (XXXIX), а также побочный продукт реакции — 5-оксипентаналь (XLI). Последнее соединение быстро и спонтанно реагирует со второй молекулой бензиламина, образуя основание Шиффа. Поэтому, для того чтобы реакция прошла до конца в нужном направлении, требуется по меньшей мере два эквивалента соответствующего амина. Отсюда следует, что тетрагидропиранильный остаток в лучшем случае может найти лишь ограниченное применение для активирования эфиров. Тем не менее этот остаток может быть полезен для временной защиты гидроксиль-

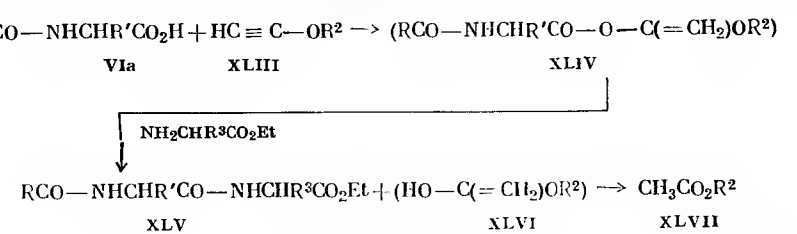


ной группы у таких аминокислот, как серин и тирозин, путем создания простой эфирной связи, устойчивой к действию щелочей, но легко расщепляющейся в присутствии кислот [807]. Так, например, при взаимодействии этилового эфира карбобензокси-L-тирозина с 2,3-дигидропираном образуется этиловый эфир N-карбобензокси-O-(2-тетрагидропиранил)-L-тирозина (XLII; т. кип. 215—217°/0.03 *мм*; $[\alpha]_D^{24}$ +40°, 4,1%, в хлороформе); эта реакция сопровождается возникновением нового асимметрического центра в положении 2 тетрагидропиранового цикла. Омыление сложного эфира



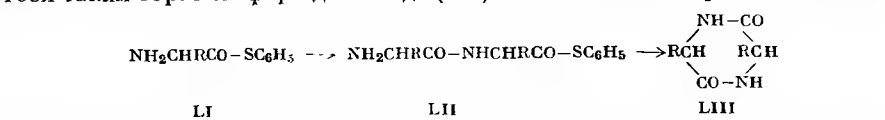
(XLII) разбавленной щелочью приводит к смеси диастереомеров соответствующих свободных кислот, которая может быть разделена на два изомера, имеющих величины удельного вращения в этаноле —47 и +46° и температуры плавления 135—137 и 80° соответственно. При действии хлорацетонитрила в присутствии триэтиламина на более высокоплавкую кислоту образуется соответствующий цианметиловый эфир (т. пл. 89—91°; $[\alpha]_D^{22}$ —65°, 3,8%, в хлороформе), который в свою очередь при обработке этиловым эфиром L-изолейцина превращается в этиловый эфир N-карбобензокси-O-тетрагидропиранил-L-тирозил-L-изолейцина (т. пл. 101—102°; $[\alpha]_D^{21}$ —35°, 4,8%, в хлороформе). Селективное отщепление карбобензоксигруппы у этого пептида приводит к этиловому эфиру O-тетрагидропиранил-L-тирозил-L-изолейцина; последний, в силу того что его гидроксильная группа защищена, может быть далее введен в конденсацию с другой ациламинокислотой или ацилпептидом с помощью метода, который был бы неприменим при наличии свободной оксигруппы. Такая же последовательность реакций была осуществлена с метиловым эфиром карбобензокси-DL-серина.

В 1955 г. Аренс [808] показал, что метоксиацетилен (XLIII; $R^2 = CH_3$) может служить конденсирующим агентом для создания пептидной связи между ациламинокислотой (VIa) и эфиром аминокислоты; реакцию проводят при 40—50° в среде инертного растворителя, например нитрометана или метанола, или без растворителя. По-видимому, эта реакция протекает путем присоединения карбоновой кислоты (VIa) к тройной связи ацетилена (XLIII); при этом образуется активированный эфир (XLIV), который в свою очередь конденсируется далее с амином, образуя нужное производное пептида (XLV), а также метилацетат (XLVII; $R^2 = CH_3$). Последнее соединение,



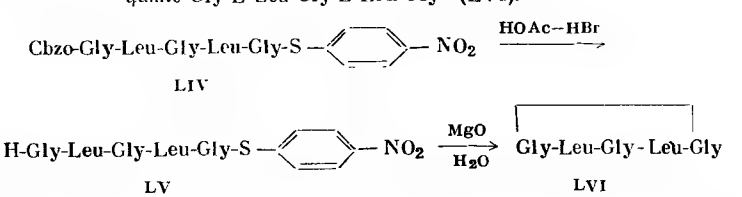
вероятно, получается в результате перегруппировки первоначально образующегося полуацеталя кетена (XLVI). Данные в подтверждение такого механизма были получены позднее Шиханом и Главкой [808а]; ими показано, что при взаимодействии фталилглицина, этилового эфира глицина и этоксиацетилена (XLIII; $R^2 = C_2H_5$) в водном растворе из реакционной смеси выпадает 1-этоксивинилфталилглицинат (т. пл. 108—110°); установлено также, что это соединение (XLIV) при конденсации с этиловым эфиром глицина в диоксане или хлористом метилене с хорошим выходом образует этиловый эфир фталилглицилглицина. Интересно отметить, кроме того, что, как показано Хеслингом и Аренсом [808б], α-хлорвинилэтиловый эфир ($H_2C=C(OC_2H_5)Cl$) и α,α-дихлордиэтиловый эфир ($CH_3C(OC_2H_5)Cl_2$), полученные соответственно присоединением 1 или 2 молей хлористого водорода к этоксиацетилену, также можно использовать в качестве конденсирующих средств для образования пептидной связи между ациламинокислотой и эфиром аминокислоты в среде этилацетата при слабом нагревании; в этом случае реакция, по-видимому, происходит путем первоначального превращения ациламинокислоты в соответствующий хлорангидрид, который в свою очередь конденсируется с аминокомпонентом, образуя нужное производное пептида.

В 1952 г. Виландом и Шефером [809] метод активированных эфиров был применен для получения полиаминокислот. Так, нагреванием смеси хлоргидрата хлорангидрида соответствующей аминокислоты (XLVIII), полученного по классическому методу Фишера (раздел 7), с тиофенолом при 70° в отсутствие растворителя получены хлоргидраты тиофениловых эфиров глицина, лейцина, метионина и валина (XLIX). Образовавшееся при нейтрализации соответствующего хлоргидрата (XLIX; R = H) щелочью свободное основание тиофенилового эфира глицина полимеризуется в водном растворе при комнатной температуре; выделенный из реакционной смеси полиглицин (I) содержит в среднем 6—7 аминокислотных остатков в цепи. Позднее Виланд и Бернхардом [810] было показано, что в аналогичных условиях тиофениловый эфир валина не подвергается полимеризации; из эфирного раствора соответствующего свободного основания был выделен лишь 2,5-дикетопиперазин (LIII); соединение (LIII), по-видимому, получается путем первоначальной межмолекулярной конденсации двух молекул тиофенилового эфира (LI) с последующей внутримолекулярной циклизацией образовавшегося таким образом эфира дипептида (LII). Такой механизм реакции подтверждается тем, что в аналогичных условиях из тиофениловых эфиров глицил-DL-валина и глицил-DL-лейцина также образуются не полимеры, а дикетопиперазины. Это затруднение может быть, однако, преодолено, если использовать производные трипептидов. Так, из ацетонового раствора тиофенилового эфира глицилвалилизолейцина через несколько дней при комнатной температуре выпадает полимер, состоящий приблизительно из девяти мономерных единиц (27 аминокислотных остатков). Эти данные говорят о том, что активированные эфиры могут быть применены для синтеза полиаминокислот с регулярно повторяющейся последовательностью трех или более аминокислотных остатков, соответствующей последовательности мономера.



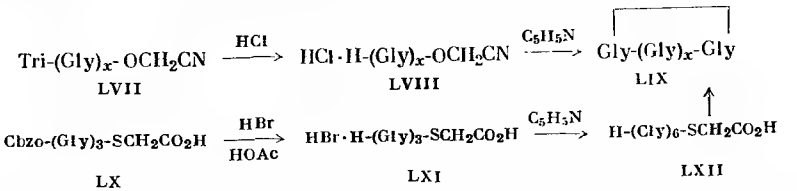
Следует отметить, наконец, что метод активированных эфиров до последнего времени являлся наиболее важным средством для получения разнообразных циклических пептидов. Так, Кеннером и Тернером [811] в 1955 г. по приведенной ниже схеме был получен

цикло-Gly-L-Leu-Gly-L-Leu-Gly (LVI):

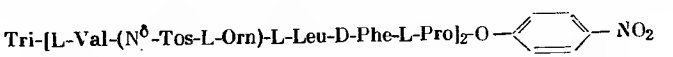


Циклизация (LV → LVI) проводилась в условиях высокого разбавления, чтобы свести к минимуму возможность образования полимеров; позднее по аналогичной схеме были синтезированы L-D-изомер циклопептида (LVI), а также циклогексапептид — *цикло*-Gly-L-Leu-Gly-Gly-L-Leu-Gly [812a].

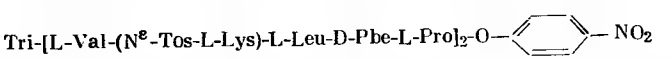
В блестящей работе Швицера, Изелина, Риттеля и Зибера [806], опубликованной в 1956 г., описывалось приложение этого метода к синтезу циклотетраглицила и циклогексаглицила. Первое соединение (LIX; $x = 2$) было получено путем добавления по каплям раствора хлоргидрата цианметилового эфира тетраглицина (LVIII; $x = 4$) к горячему пиридину, в то время



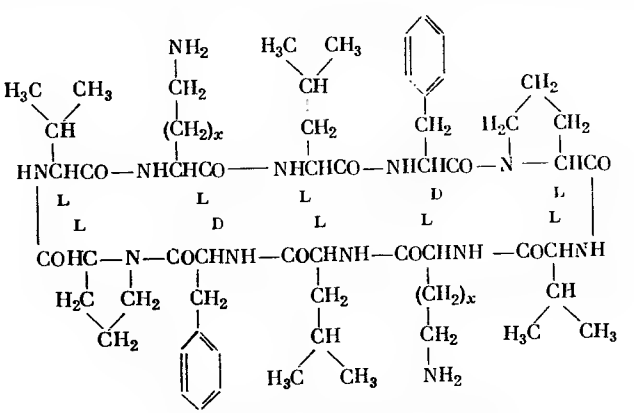
как синтез циклогексапептида (LIX; $x = 4$) был осуществлен таким же методом, исходя из бромгидрата триглицилгликолевой кислоты (LXI) или из хлоргидрата цианметилового эфира триглицина (LVIII; $x = 3$); в последнем случае внутримолекулярной циклизации предшествует, по-видимому, конденсация двух молекул производного трипептида (LXI → LXII). Соответствующие промежуточные соединения — галогенгидраты (LVIII или LXI) — были получены путем отщепления с помощью галогенводородов тритильной [806] или карбобензоксигрупп [812] от соответствующих эфиров ацилпептидов (LVII и LX). Применение этого метода позволило Швицеру и Зиберу в 1957 г. осуществить изящный синтез грамицидина С [719], а годом позднее—гомограмицидина С [626a]. Эти соединения были получены путем катализируемого трифторуксусной кислотой удаления тритильных групп с



и



соответственно с последующей циклизацией детритилированных производных в пиридине при слабом нагревании и детозилированием путем восстановления натрием в жидком аммиаке (раздел 45). Позднее эти же цикло-



Грамицидин С (x=2) или гомограмицидин С (x=3)

декапептиды были синтезированы [814a] при использовании

Tri-L-Val-(N$^{\delta}$-Tos-L-Orn)-L-Leu-D-Phe-L-Pro-O — C$_6$H$_4$ — NO$_2$

и

Tri-L-Val-(N$^{\varepsilon}$-Tos-L-Lys)-L-Leu-D-Phe-L-Pro-O — C$_6$H$_4$ — NO$_2$

вместо соответствующих эфиров тритилдекапептидов; как и в описанном выше случае образования циклогексаглицила, циклизации предшествует, вероятно, конденсация двух молекул производного пентапептида. Такая «реакция удвоения» имеет весьма общий характер; об этом свидетельствует тот факт, что при циклизации *п*-нитрофенилового [812c] и *п*-нитротиофенилового [812a] эфиров глицил-L-лейцилглицина, а также *п*-метансульфонилфенилового эфира глицилглицил-DL-фенилаланина и цианметилового эфира глицил-DL-фенилаланилглицина [812b] во всех случаях образовались циклогексапептиды. Несмотря на то что цианметиловый эфир тетраглицина удалось успешно превратить в соответствующий циклотетрапептид [806], попытки циклизации *п*-нитротиофенилового эфира L-лейцилглицил-L-лейцилглицина [812a] оказались неудачными. Эти данные, а также реакция удвоения, имеющая место в случае некоторых производных три- и пентапептидов, свидетельствуют о большом влиянии конфигурации и стерических факторов на направление реакции циклизации.

В табл. 91 приведены температуры плавления ряда описанных до настоящего времени активированных эфиров.

Область применения и ограничения. Опыт показывает, что из большого числа более или менее легко доступных синтетическим путем активированных эфиров ациламинокислот и ацилпептидов наибольшее практическое значение имеют цианметиловые, тиофенилловые, *п*-нитрофениловые и *п*-нитротиофениловые эфиры. Хотя соединения этого типа не так реакционноспособны, как соответствующие хлорангидриды, смешанные ангидриды или азиды, они тем не менее имеют некоторые преимущества, которые в ряде случаев делают выгодным их применение в качестве ацилирующих агентов. Так, активированные эфиры могут быть получены в больших количествах и могут храниться без разложения в течение длительного времени перед их использованием; это обусловлено высокой стабильностью, кристаллической природой и резкими физическими константами этих соединений. Относительно высокая устойчивость активированных эфиров к омылению позволяет проводить их конденсацию с аминокислотами и пептидами в водно-щелочной среде и получать при этом удовлетворительные в общем случае выходы. Особое значение имеет применение активированных эфиров для синтеза циклических пептидов, поскольку их растворы в инертном органическом растворителе или в водной среде чрезвычайно устойчивы в течение весьма продолжительного времени и не так легко подвергаются диспропорционированию или разложению, как многие другие активированные промежуточные соединения. Значительные пространственные затруднения, обусловленные объемистой тритильной группой, препятствуют широкому применению активированных эфиров тритиламинокислот в синтезе пептидов [546]; напротив, аналогичное использование трифторацетиламинокислот приводит к очень хорошим результатам [814]. Следует отметить, наконец, что синтез пептидов с участием активированных эфиров в том случае, если исходные вещества содержат остатки оптически деятельных аминокислот, часто не сопровождается рацемизацией; этот факт, однако, ни в коем случае нельзя рассматривать как общее правило. Так, например, при конденсации

Cbzo-L-CySBz-L-Tyr-OCH$_2$CN с H-L-Ileu-OEt

или

Cbzo-L-CySBz-OCH$_2$CN с H-L-Tyr-Ileu-OEt

образуется оптически чистый

Cbzo-L-CySBz-L-Tyr-L-Ileu-OEt [804],

в то время как конденсация

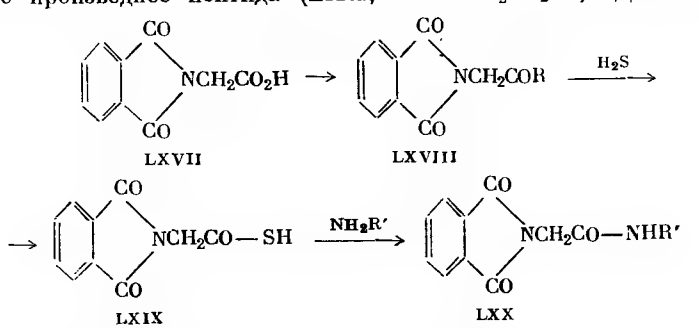
Cbzo-Gly-L-Ala — S — C$_6$H$_4$ — NO$_2$ с H-L-Phe-Gly-OH

сопровождается заметной потерей оптической активности. Имеющиеся в настоящее время данные не позволяют сделать вывода о том, в какой мере на процесс рацемизации могут оказывать влияние структура сложноэфирной группировки активированного эфира, природа остатков аминокислот или какие-либо другие факторы.

Родственные методы. В 1898 г. Павлевский [816] показал, что тиокислоты обладают ацилирующими свойствами; так, при обработке тиоуксусной кислотой (LXIII) ряда ароматических аминов (LXIV) легко образуются соответствующие ацетиламиды (LXV); реакция сопровождается выделением

$$\underset{\text{LXIII}}{CH_3COSH} + \underset{\text{LXIV}}{NH_2Ar} \longrightarrow \underset{\text{LXV}}{CH_3CO{-}NHAr} + \underset{\text{LXVI}}{H_2S}$$

сероводорода. В 1952 г. Крониным и Жу [817] было установлено, что аналогичными свойствами обладают ацетилированные тиоаминокислоты; этим исследователям удалось превратить фталилглицин (LXVII) во фталилтиоглицин (LXIX) при пропускании тока сероводорода через охлажденный раствор соответствующего ангидрида с этилугольной кислотой (LXVIII; R = C_2H_5OCO) в хлористом метилене. В опубликованном практически одновременно сообщении Шихана и Джонсона [818] были описаны два метода получения этого соединения; первый метод был аналогичен предложенному Крониным и Жу, а второй метод заключался в действии гидросульфида натрия на раствор хлорангидрида фталилглицина (LXVIII; R = Cl) в диметилформамиде. При обработке тиокислоты (LXIX) хлоргидратом метилового эфира глицина а) в среде хлористого метилена в присутствии третичного амина или б) в водном растворе бикарбоната натрия образуется нужное производное пептида (LXX; R′ = CH_2CO_2Me). Данные о более



широком применении тиокислот такого типа для синтеза пептидов чрезвычайно ограниченны. В этой связи, однако, интересно отметить, что Вилан-

дом с сотрудниками [819—821] был описан синтез нескольких свободных тиоаминокислот; так, при действии сероводорода на тиофениловый эфир

$$\underset{\text{LXXI}}{NH_2CHRCO{-}SC_6H_5} + \underset{\text{LXVIa}}{H_2S} \longrightarrow \underset{\text{LXXII}}{H_3\overset{\oplus}{N}CHRCO\overset{\ominus}{S}} + C_6H_5SH$$

соответствующей аминокислоты (LXXI) в водно-щелочной среде или в инертном органическом растворителе в присутствии третичного основания были получены тиоглицин, тиоаланин, тио-β-аланин, тио-γ-аминомасляная кислота, тио-ε-аминокапроновая кислота, тиоизолейцин, тиометионин, тиотриптофан и тиовалин.

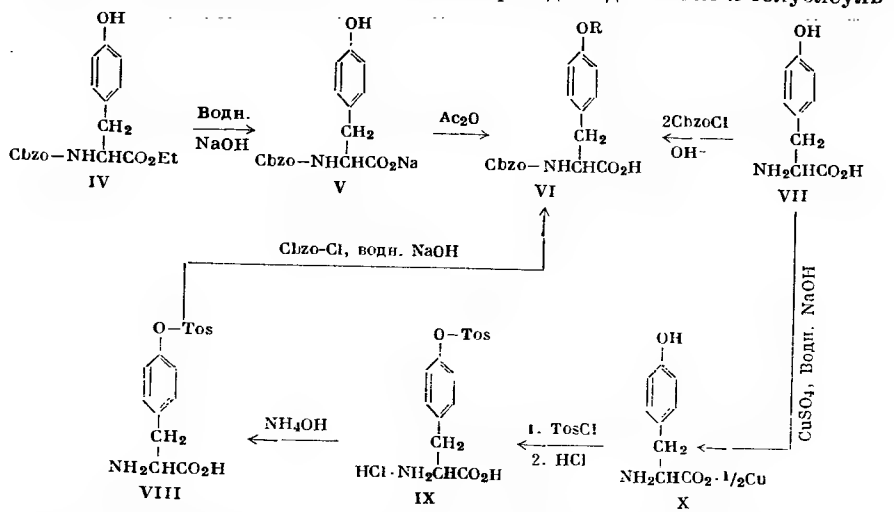
39. Методы, применяемые к аминокислотам с дополнительной функциональной группой. Прежде всего необходимо подчеркнуть, что хотя рассмотренные выше методы образования пептидной связи могут считаться общими, их использование в синтезе соответствующих пептидных производных, как правило, возможно лишь при отсутствии реакционноспособных групп в боковой цепи вводимых в реакцию аминокислот. Проблемы, касающиеся образования пептидной связи в случае производных глицина, аланина, лейцина, фенилаланина, пролина, триптофана или метионина, были подробно обсуждены ранее и поэтому их рассмотрение в данном разделе является излишним; были затронуты также вопросы, связанные с добавочными трудностями при работе с производными валина и изолейцина ввиду вносимых ими стерических ограничений. Однако если в качестве дополнительных функциональных групп в молекуле аминокислоты или пептида присутствуют гидроксильные группы серина, треонина, оксипролина и тирозина, ω-основные группы аргинина, лизина и гистидина, ω-карбоксильные функции аспарагиновой и глутаминовой кислот или атомы серы цистеина и цистина, то становится необходимой соответствующая защита этих реакционноспособных группировок перед стадией конденсации. В связи с этим следует обратить внимание на подбор таких защитных групп, которые могут отщепляться в условиях, не ведущих к гидролизу лабильных пептидных связей или к рацемизации имеющихся в молекуле пептида асимметрических центров. Приводимый ниже материал и касается главным образом вопросов защиты указанных функциональных групп при синтезе пептидов.

Ароматические и алифатические гидроксильные группы. Известно, что в условиях синтеза пептидов с помощью азидного (раздел 26) и карбодиимидного (раздел 36) методов, а также метода, основанного на использовании хлорокиси фосфора (раздел 34), гидроксильная группа остатков оксиаминокислот, как правило, не затрагивается. Благодаря этому создается возможность для успешного использования указанных методов при синтезах пептидов в тех случаях, когда в состав карбоксильного или аминокомпонента входит незащищенная гидроксильная группа остатков серина [444, 501, 631, 699, 718, 785], треонина [454, 524, 687, 769], оксипролина [169, 524, 769] или тирозина [400, 537, 700, 769]. Кроме того, наличие свободной фенольной гидроксильной группы тирозинового остатка не вносит существенных ограничений в синтезы соответствующих пептидов при использовании тетраэтилпирофосфитного метода (раздел 31) [82, 446, 722], а также метода активированных эфиров (раздел 38) [804] или смешанных ангидридов (раздел 29) [822]. Тем не менее поскольку в условиях, необходимых для превращения ацилированной аминокислоты или пептида в соответствующий хлорангидрид или смешанный ангидрид, может также иметь место ацилирование или значительное химическое изменение гидроксильной группы, то в случае использования в пептидном синтезе соединений со свободной гидроксильной функцией выбор метода конденсации не может быть произвольным. В связи с этим необходимо отметить, что при конденсации карбобензокси-L-оксипролина с этиловым эфиром глицилглицина методом смешанных ангидридов выход соответствующего эфира ацилированного трипептида составляет лишь 38% [823]. Хотя в этом случае конденсация и имеет место, выделение продукта реакции с гораздо меньшим выходом, чем обычно наблюдаемый при данном методе (80—90%), свидетельствует, по всей вероятности, о наличии большого числа побочных реакций с участием свободной гидроксильной группы. Однако ввиду большей реакционноспособности аминогруппы по сравнению с гидроксильной (при обычных условиях пептидного синтеза) не должно встретиться серьезных затруднений при конденсации хлорангидрида или смешанного ангидрида с аминоэфиром, включающим остаток оксиаминокислоты [168, 400, 657, 700, 734, 824]. В частности, было показано, что обработка эфира серина (II) хлорангидридом фталил- или тозилглицина в присутствии диэтиламина в диоксановом растворе может привести к образованию эфира N-ацилглицил-(I) или O,N-диацилглицилсерина (III) в зависимости от того, используется 1 или 2 экв. хлорангидрида [825].

$$\underset{\text{I}}{RCO{-}NH\overset{CH_2OH}{\overset{|}{C}}HCO_2Et} \xleftarrow[(C_2H_5)_2NH]{RCOCl} \underset{\text{II}}{NH_2\overset{CH_2OH}{\overset{|}{C}}HCO_2Et} \xrightarrow[2(C_2H_5)_2NH]{2RCOCl} \underset{\text{III}}{RCO{-}NH\overset{CH_2OCOR}{\overset{|}{C}}HCO_2Et}$$

Вскоре после введения в пептидную химию карбобензоксигруппы [128] было высказано предположение, что если бы реакционная способность гидроксильной функции оксиаминокислот была подавлена путем использования селективно снимаемой O-защитной группы, то такие защищенные оксиаминокислоты могли бы вводиться в пептидный синтез с помощью ранее неприменимых методов конденсации. Первые усилия в этом направлении были нацелены на поиски такой ацильной группы для защиты фенольного гидроксила N-карбобензокси-L-тирозина, которая была бы способна отщепляться селективно, создавая возможность для введения в молекулу пептида N-концевых тирозиновых остатков. Хотя было получено большое число O-ацильных производных N-карбобензокси-L-тирозина, отвечающих указанным требованиям, с практической точки зрения пригодными для этой цели оказались лишь описанные ранее O-карбобензокси- [826], O-ацетильное [378], а также предложенное сравнительно недавно O-тозильное [446] производные. Синтез первого из этих соединений, O,N-дикарбобензокси-L-тирозина (VI: R = $C_6H_5CH_2OCO$), был осуществлен Абдергальденом и Баном [826] в 1933 г. путем обработки холодного водного щелочного раствора L-тирозина избытком карбобензоксихлорида (методика 103); тот же самый метод или его незначительные модификации были использованы затем для получения O,N-дикарбобензокси-DL- [379], O,N-дитозил-L- [126, 430], O,N-дикарбоаллилокси-L- [460], O,N-дибензилсульфонил-L- (DL-) [601] и O,N-ди-*n*-нитрокарбобензокси-DL-тирозина [362]. Наиболее широко используемый в настоящее время в химии пептидов диацилтирозин, O-ацетил-N-карбобензокси-L-тирозин (VI; R = CH_3CO) был получен в 1934 г. Бергманом, Зервасом, Зальцманом и Шлейхом [378] путем омыления этилового эфира N-карбобензокси-L-тирозина (IV) водной щелочью с последующей обработкой полученной натриевой соли (V), без выделения, уксусным ангидридом. Примерно через 25 лет Кацояннис, Гиш и Дю Виньо [446] описали O-тозил-N-карбобензокси-L-тирозин (VI; R = $H_3C - C_6H_4 - SO_2$), который является в принципе одним из самых ценных производных этого

типа. Получение этого соединения было проведено действием *п*-толуолсуль-



фохлорида на щелочной раствор медного комплекса L-тирозина (X) с последующим N-карбобензоксилированием полученного таким образом О-тозил-L-тирозина (VIII) в водной щелочи (методика 104).

Типичная методика 103 [379]. О,N-Дикарбобензокси-L-тирозин. К раствору 11,5 *г* L-тирозина в 60 *мл* 2 н. раствора едкого натра поочередно добавляют небольшими порциями (0°, 1 *час*) 25 *г* карбобензоксихлорида (методика 27) и 40 *мл* 4 н. раствора едкого натра; при этом реакционную смесь интенсивно перемешивают и добавление реагентов регулируют так, чтобы значение pH среды поддерживалось в интервале от 9 до 11. После окончания добавления реагентов раствор нагревают до комнатной температуры и затем экстрагируют эфиром (2 × 100 *мл*). Подкисление водного слоя 4 н. соляной кислотой (по конго красному) приводит к осаждению нужного О,N-дикарбобензоксипроизводного, которое в свою очередь дважды экстрагируют эфиром порциями по 100 *мл*. Объединенный эфирный экстракт высушивают безводным сульфатом натрия, упаривают в вакууме и кристаллический остаток дважды перекристаллизовывают из четыреххлористого углерода; выход 25,3 *г* (89%), т. пл. 117° $[\alpha]_D^{20} = -5°$ (10%, в ледяной уксусной кислоте).

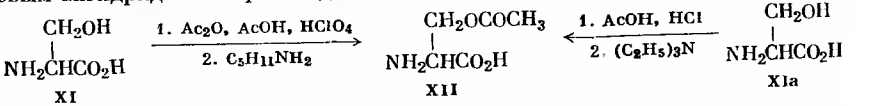
Типичная методика 104 [446]. N-Карбобензокси-О-тозил-L-тирозин. К раствору 18 *г* (0,1 моля) L-тирозина в 200 *мл* 1 н. раствора едкого натра (0.2 моля) добавляют раствор 12,5 *г* (0,05 моля) сульфата меди (пентагидрата) в 50 *мл* воды. Смесь обрабатывают далее раствором 19 *г* (0,1 моля) *п*-толуолсульфохлорида в 40 *мл* эфира и затем энергично встряхивают в течение 3,5 *час*. Выпавший медный комплекс отфильтровывают, промывают водой и затем растворяют в 200 *мл* концентрированной соляной кислоты. Смесь выдерживают несколько часов на холоду, кристаллический хлоргидрат О-тозил-L-тирозина отфильтровывают и после этого растворяют в 1 *л* воды. Путем добавления аммиака pH раствора доводят до 6, и при этом выпадает кристаллический осадок О-тозил-L-тирозина; смесь выдерживают на холоду в течение нескольких часов, фильтруют, осадок промывают водой и пере-

кристаллизовывают из кипящей воды (1 *г* вещества на 100 *мл* растворителя); выход 12,5 *г* (37%), т. пл. 215—217°, $[\alpha]_D^{22}$ +9,0° (3,0%, в 1 н. HCl).

Смесь 3,35 *г* (0,01 моля) О-тозил-L-тирозина, 10 *мл* 1 н. раствора едкого натра, 15 *мл* 1 н. раствора карбоната натрия и 80 *мл* 1 н. раствора бикарбоната натрия (pH 9) нагревают в течение нескольких минут и затем охлаждают до 0°. К суспензии при охлаждении и энергичном перемешивании добавляют порциями в течение 1 *час* 2 *г* карбобензоксихлорида (методика 27). После окончания добавления реакционную смесь перемешивают еще 30 *мин*, подкисляют соляной кислотой и вновь перемешивают в течение 15 *мин*. Осадок отфильтровывают, промывают водой, высушивают в вакууме и очищают путем осаждения гексаном из этилацетата; выход 3,8 *г* (83%), т. пл. 124—126°, $[\alpha]_D^{25}$ —27° (1%, в диметилформамиде).

При использовании вышеуказанных производных в пептидном синтезе обычно предполагается превращение О,N-диацилированного тирозина в соответствующий хлорангидрид или смешанный ангидрид с последующей его обработкой соответствующим амином в водной или органической среде, что приводит к нужному О,N-диацилированному пептиду [378, 446, 637, 700, 822, 826]. Такого рода О,N-диацилтирозины оказываются также ценными как исходные соединения для получения соответствующих О-ацил-N-карбоксиангидридов тирозина, которые были использованы для ступенчатого синтеза простых пептидов [353] и в реакциях полимеризации [369, 379] (раздел 10). Во всяком случае, О-ацетильная группа, принадлежащая О,N-диацильному производному пептида, легко отщепляется в мягких щелочных условиях, обычно используемых для омыления эфиров жирных кислот [353, 369, 378, 637, 700], или путем действия гидразина [637]; с другой стороны, О-тозильная группа отщепляется при обработке натрием в жидком аммиаке [446], а О-карбобензоксигруппа — при действии раствора бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте [369, 379, 822], водной щелочи [369, 379] или при гидрировании в присутствии палладиевого катализатора [826]. Условия отщепления этих групп более детально рассматриваются ниже.

Аналогично тирозину может быть осуществлено О-ацилирование других оксиаминокислот. Так, Саками и Тённис [827] в 1942 г. показали, что О-ацетильные производные L-оксипролина, DL-серина (XII), DL-треонина и L-тирозина могут быть легко получены с высоким выходом и при отсутствии рацемизации путем обработки соответствующей аминокислоты раствором уксусного ангидрида и хлорной кислоты в ледяной уксусной кислоте (методика 105); ацилирование только гидроксильной группы становится возможным вследствие присутствия хлорной кислоты, которая обеспечивает эффективное блокирование ацилирования аминогруппы и одновременно является катализатором реакции О-ацилирования. Сравнительно недавно Шихан, Гудман и Хесс [524] получили О-ацетил-L-серин (XII) действием газообразного хлористого водорода на суспензию L-серина (XIa) в избытке ледяной уксусной кислоты (методика 105); обработка суспензии (XII) фталевым ангидридом в горячем диоксане привела к N-фталил-О-ацетил-L-серину.



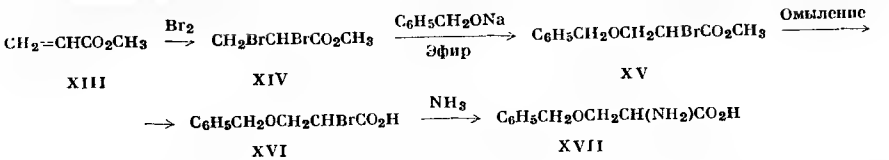
Соответствующее О-ацетильное производное N-карбобензокси-DL-серина было получено несколько раньше Френкелем и Хальманом [377] действием хлористого ацетила на N-карбобензокси-DL-серин в горячем бензольном растворе, в то время как О,N-дикарбобензокси-DL-серин был выделен

в 1934 г. Левеном и Шормюллером [503] из маточных растворов реакционной смеси, используемой для N-карбобензоксилирования DL-серина в условиях Шоттена — Баумана. В отличие от аналогичных производных тирозина ни одно из упомянутых выше O,N-диацильных производных серина не было широко использовано для синтеза пептидных производных с N-концевым серином. Так, использование O-ацетил-N-фталилсерина до сих пор ограничивалось лишь его конденсацией с метиловым эфиром L-фенилаланина с помощью N,N′-дициклогексилкарбодиимида [524], в то время как O-ацетил-N-карбобензокси- и O,N-дикарбобензоксипроизводные были применены при изучении полимеризации с предварительным превращением их в соответствующие O-ацил-N-карбоксиангидриды серина путем обработки пятихлористым фосфором в эфирном растворе [377] (см. раздел 10). До сих пор не имеется никаких данных об аналогичном использовании в синтетической пептидной химии O-ацильных производных треонина или оксипролина.

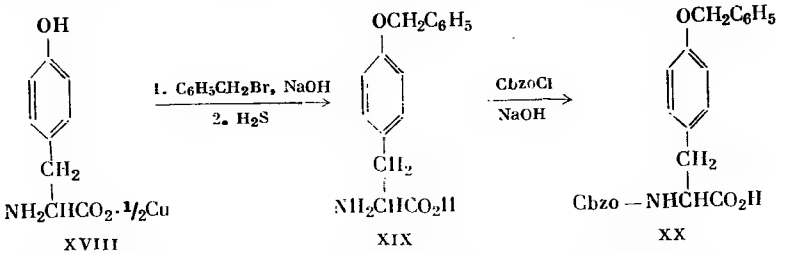
Типичная методика 105 [397, 827]. O-Ацетил-DL-серин. Смесь 4,99 *г* 60,4%-ной хлорной кислоты и 2,52 *г* 98,7%-ного уксусного ангидрида разбавляют до объема 50 *мл* 100%-ной уксусной кислотой (приготовленной из ледяной уксусной кислоты путем ее обезвоживания уксусным ангидридом) и в полученной смеси растворяют 2,5 *г* DL-серина. Раствор охлаждают до 0° и к нему добавляют вначале 12 *г* 98,7%-ного уксусного ангидрида и через 1,5 *час* — 1 *мл* воды. Реакционную смесь оставляют еще на 1 *час* и затем добавляют к ней 3,48 *г* амиламина. Последующее добавление 300 *мл* эфира приводит к осаждению нужного O-ацетильного производного; выход 3,1 *г* (91%), т. пл. 144° (с разложением). Перекристаллизацию можно провести из 50%-ного этанола. Аналогичные методики были использованы для получения O-ацетильных производных L-оксипролина (т. пл. 179 — 181° с разложением), DL-треонина (т. пл. 146—149° с разложением) и L-тирозина (т. пл. 213—214° с разложением) [827].

O-Ацетил-L-серин [524]. Раствор 3,5 *г* L-серина в 150 *мл* ледяной уксусной кислоты насыщают хлористым водородом при 0°. Затем реакционную смесь оставляют на 15 *час* при комнатной температуре, растворитель отгоняют в вакууме и весь процесс повторяют. Оставшийся хлоргидрат O-ацетил-L-серина кристаллизуют из смеси этанола с эфиром; выход 5,2 *г* (99%), т. пл. 160° (с разложением), $[\alpha]_D^{27}$ —7,4° (2,2%, в этаноле). Если раствор 3 *г* полученного продукта реакции в этаноле обработать 1,62 *г* триэтиламина, то выпадает осадок O-ацетил-L-серина, который после отфильтровывания перекристаллизовывают из водного этанола; выход 2,42 *г* (98%), т. пл. 167—168° (с разложением), $[\alpha]_D^{27}$ +9,2° (1,8%, в 0,1 н. соляной кислоте).

Благодаря тому, что некоторые заместители, соединенные простой эфирной связью, способны преимущественно отщепляться в мягких условиях, они могут быть использованы для защиты реакционноспособной гидроксильной группы остатка оксиаминокислоты. Предыдущая дискуссия по этому вопросу касалась O-связей между лабильной к кислотам тетрагидропиранильной группой и остатком серина или тирозина (раздел 38). Поскольку O-бензильная группа легко расщепляется по простой эфирной связи при каталитическом гидрировании, она также может быть использована в качестве защитной группы. Это показано в ряде исследований Окава [398, 504, 828], который синтезировал (формулы XIII—XVII) и расщепил на оптические антиподы O-бензил-DL-серин (XVII) и успешно использовал карбобензоксипроизводное L-изомера для синтеза некоторых пептидов с N-концевым серином (методика 106). В процессе этих исследований были получены интересные данные о том, что использование в реакциях конденсации с по



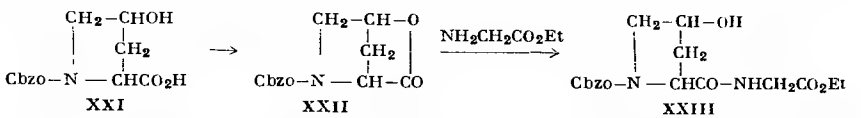
мощью N,N′-дициклогексилкарбодиимида незащищенного N-карбобензоксисерина вызывает значительное количество побочных реакций и приводит к крайне низким выходам продукта реакции, в то время как использование соответствующих O-бензильных производных серина обеспечивает протекание конденсации с высоким выходом в отсутствие нежелательных реакций. Более поздние исследования Цана и Диля [678] подтвердили факт образования значительного количества побочных продуктов в тех случаях, когда в реакциях конденсации участвует незащищенный N-ацилированный серин, а в качестве конденсирующего агента используется N,N′-дициклогексилкарбодиимид. O-Бензил-DL-серин в виде его этилового эфира и N-карбобензоксипроизводного [829], а также O-бензил-L-тирозин в виде его метилового эфира и N-карбобензоксипроизводного [830] недавно были успешно использованы в реакциях конденсации с применением фосфоразосоединений (раздел 33). Синтез O-бензил-N-карбобензокси-L-тирозина (XX) был осуществлен путем действия бромистого бензила на медный комплекс L-тирозина (XVIII) в водной щелочи, удаления ионов меди обработкой газообразным сероводородом и последующего N-карбобензоксилирования полученного таким образом O-бензил-L-тирозина (XIX).



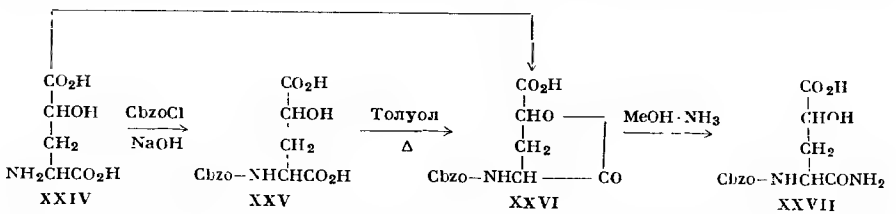
Типичная методика 106 [504]. Метиловый эфир N-карбобензокси-O-бензил-L-серил-L-тирозина. Смесь 1,51 *г* хлоргидрата метилового эфира L-тирозина (методика 48) и 0,9 *мл* триэтиламина обрабатывают 10 *мл* тетрагидрофурана, реакционную смесь встряхивают несколько минут, осадок хлоргидрата триэтиламина отфильтровывают и к фильтрату добавляют 1,34 *г* N,N′-дициклогексилкарбодиимида (методика 84) и 1,65 *г* N-карбобензокси-O-бензил-L-серина, т. пл. 98°. Получение последнего реагента было осуществлено расщеплением O-бензил-DL-серина на оптические антиподы с последующим превращением L-изомера в его N-карбобензоксипроизводное (см. методики 28 и 30). Реакционную смесь оставляют на 4 *час* при комнатной температуре, осадок N,N′-дициклогексилмочевины отфильтровывают, к фильтрату добавляют 0,15 *мл* уксусной кислоты и через час выпавший осадок вновь отфильтровывают. Фильтрат упаривают в вакууме, остаток растворяют в этилацетате и после отделения нерастворимых примесей к раствору добавляют петролейный эфир до начала кристаллизации продукта реакции. Пере-

кристаллизацию проводят из смеси этилацетата с петролейным эфиром; выход 1,8 *г* (72%), т. пл. 111—112°, $[\alpha]_D^5$ +15,5° (2,8%, в 99%-ном этаноле).

В ряде отдельных случаев для образования пептидной связи успешно была использована лактонизация, которую претерпевают некоторые N-ацилированные оксиаминокислоты. Так, в 1957 г. Патчетт и Виткоп [487] показали, что лактон карбобензокси-L-*алло*-оксипролина (XXII) может претерпевать аминолиз с образованием этилового эфира карбобензокси-L-*алло*-оксипролилглицина (XXIII) при обработке смесью хлоргидрата этилового эфира глицина, безводного сульфата магния и триэтиламина в кипящем бензоле; аналогичным образом был получен D-*алло*-изомер дипептида. Получение исходного лактона (XXII) легко осуществить действием N,N'-дициклогексилкарбодиимида на карбобензокси-*алло*-оксипролин (XXI) в растворе хлористого метилена. Аналогичная лактонизация невозможна в случае соответствующей нормальной формы карбобензоксиоксипролина вследствие *транс*-ориентации гидроксильной и карбоксильной групп по отношению к плоскости пирролидинового цикла (раздел 32 в гл. 4).



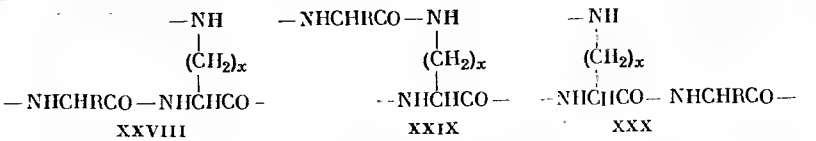
Однако аналогичное превращение возможно в случае нормальной и *алло*-форм лактона карбобензокси-DL-γ-оксиглутаминовой кислоты (XVI), который под влиянием метанольного раствора аммиака претерпевает аммонолиз (образование амида XXVII) с одновременным раскрытием лактонного цикла [485]. Следует отметить, что хотя лактон карбобензокси-*алло*-γ-оксиглутаминовой кислоты (XXVI) образуется спонтанно при карбобензоксилировании свободной аминокислоты (XXIV) в обычных условиях Шоттена — Баумана, нормальная форма аминокислоты в аналогичных условиях дает ожидаемую ациламинодикарбоновую кислоту (XXV). Превращение последней в соответствующий лактон (XXVI) легко осуществить путем ее кипячения в толуоле с использованием азеотропной отгонки воды. Цаном и Цюрном



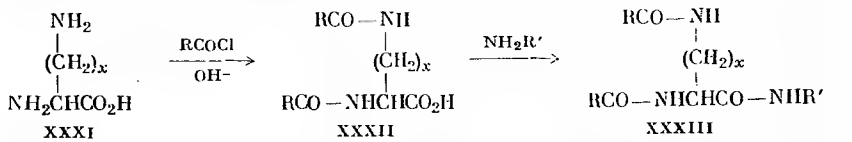
было недавно показано [830а], что лактоны нормальной и *алло*-форм дикарбобензокси-DL-оксилизина претерпевают аналогичный аминолиз при действии теплого метанольного раствора аммиака, а также теплого раствора амидов глицина или аланина в диоксане.

ω-Аминогруппы. Дальнейшее обсуждение касается главным образом получения пептидных производных, содержащих остатки лизина или орнитина, хотя оно применимо и к синтезам, в которых участвуют другие α,ω-диаминокислоты. В пептидные связи, образованные остатками таких диаминомонокарбоновых кислот, может быть вовлечена α-амино-(XXVIII), ω-ами-но- (XXIX) или α-карбоксильная группа (XXX) последних, а также

одновременно две или три этих группы.

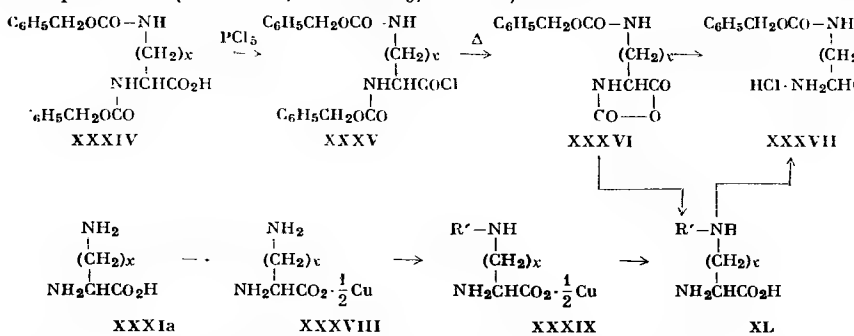


Однако наибольшее число экспериментальных данных касается путей образования пептидных связей с участием α-амино- и α-карбоксильной групп. Производные пептидов общего типа (XXX) очень легко получают путем первоначального превращения исходной диаминокислоты (XXXI) в соответствующее N^{α}, N^{ω}-диацильное производное (XXXII) с последующей его конденсацией с подходящим аминоэфиром к нужному защищенному пептиду (XXXIII). Для этой цели оказываются пригодными описанные ранее (разделы 13—21) селективно удаляемые N-защитные группы. Так, хотя до настоящего времени для синтеза пептидов с N-концевым лизином [491, 507, 626, 649, 660, 667, 697, 706, 715, 723, 734, 831—834] использовалось почти исключительно N^{α}, N^{ε}-дикарбобензоксипроизводное лизина (XXXII; $R=C_6H_5CH_2O$, $x=4$) [358], в данном случае могут быть применены также дикарбоаллилокси- [460], ди-*п*-нитрокарбобензокси- [362], дибензилсульфонильное- [601], дикарбоциклопентилокси- [464], дитрифторацетильное [570] и дитритильное [550] производные. За исключением двух последних соединений, указанные выше диацилли зины вообще могут быть получены обработкой лизина двумя эквивалентами соответствующего хлорангидрида в условиях Шоттена — Баумана. С другой стороны, синтез α,ε-дитрифторацетиллизина достигается путем взаимодействия ε-трифторацетиллизина с трифторуксусным ангидридом в растворе трифторуксусной кислоты при 0° (см. раздел 17), в то время как дитритиллизин получается при действии тритилхлорида на хлороформный раствор метилового эфира лизина в присутствии третичного основания с последующим омылением образовавшегося метилового эфира тритиллизина [550]. Наконец следует отметить, что получение α,δ-дикарбобензоксиорнитина (XXXII; $R = C_6H_5CH_2O$, $x = 3$) делает возможным синтез пептидных производных с N-концевым остатком орнитина [373, 421].



Синтез пептидов, в которых и α-, и ω-аминогруппы α,ω-диаминокислоты участвуют в образовании пептидных связей, не представляет больших трудностей, поскольку нужное соединение может быть получено просто при конденсации двух эквивалентов ацилированной аминокислоты или пептида с одним эквивалентом эфира соответствующей диаминокислоты. Однако для синтеза пептидов, в которых в создании пептидной связи участвует α-аминогруппа, но не ω-аминогруппа, обычно в качестве аминокомпонента используют N^{ω}-ацильное производное диаминокислоты. Для защиты ω-аминогруппы в данном случае требуются специальные методы, позволяющие в то же самое время оставить α-аминогруппу свободной для конденсации. Удачный подход к решению этой проблемы был сделан Бергманом, Зервасом и Россом [358], которые использовали свойство хлорангидридов карбобензоксиаминокислот, заключающееся в легком элиминировании хлористого

бензила с образованием соответствующих N-карбоксиангидридов (раздел 10). Так, действие пятихлористого фосфора на раствор α,ε-дикарбобензокси-L-лизина (XXXIV; $x=4$) в эфире приводит к соответствующему хлорангидриду (XXXV), который при нагревании до 50—60° превращается в N-карбоксиангидрид (XXXVI); обработка последнего метанольным раствором хлористого водорода сопровождается образованием хлоргидрата метилового эфира ε-карбобензокси-L-лизича (XXXVII; $R = CH_3$, $x = 4$) (методика 107), в то время как при обработке водой получается ε-карбобензоксиаминокислота (XL; $R' = C_6H_5CH_2OCO$, $x = 4$). Аналогичная последовательность реакций была использована затем для получения хлоргидратов бензиловых эфиров ε-карбобензокси-L- и D-лизина (XXXVII; $R=CH_2C_6H_5$, $x = 4$) [667], а также L-[373] и DL-форм [372] хлоргидрата метилового эфира δ-карбобензоксиорнитина (XXXVII; $R = CH_3$, $x = 3$).



Типичная методика 107 [358]. Хлоргидрат метилового эфира ε-карбобензокси-L-лизина. При обработке раствора 25 *г* дихлоргидрата L-лизина в 171 *мл* 2 н. раствора едкого натра смесью 60 *г* карбобензоксихлорида и 142 *мл* 4 н. раствора едкого натра в условиях Шоттеча — Баумана в конечном итоге получают 45 *г* α,ε-дикарбобензокси-L-лизина в виде растворимого в эфире сиропа (см. методику 29). Этот сироп растворяют в 175 *мл* сухого эфира и затем обрабатывают 26 *г* пятихлористого фосфора, как описано в методике 17; при этом образуется N-карбоксиангидрид ε-карбобензокси-L-лизина. После перекристаллизации из смеси этилацетата с петролейным эфиром это соединение получают с выходом 28,1 *г*; т. пл. 100° (с разложением). К раствору 23,1 *г* N-карбоксиангидрида в 15 *мл* абсолютного метанола добавляют 150 *мл* 1 н. раствора хлористого водорода в абсолютном метаноле, причем при нагревании реакционной смеси до 50° начинается выделение углекислого газа. Раствор оставляют на ночь при комнатной температуре и затем концентрируют в вакууме при 40—50° до сиропообразного состояния. При растирании остатка в присутствии небольшого количества эфира наступает кристаллизация; выход 24,5 *г*. После перекристаллизации из горячего ацетона т. пл. 117°.

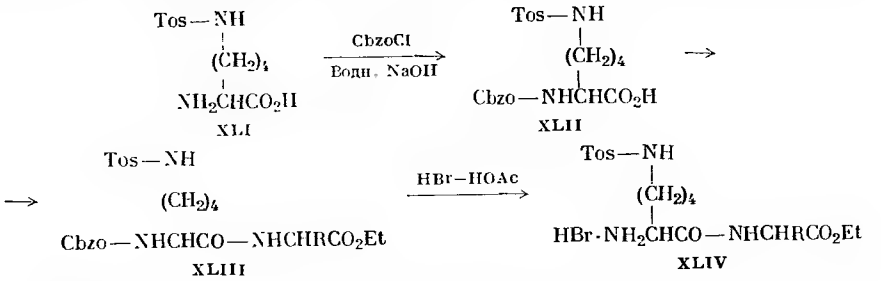
Другой путь к ω-ацильным производным диаминокислот, связанный с использованием медных комплексов, имеет то преимущество, что в данном случае α-амино- и α-карбоксильная группы медной соли α,ω-диаминокислоты связаны в устойчивую хелатную структуру, включающую атом меди, в то время как ε-аминогруппа остается свободной для реакции с ацилирующим агентом. Такой способ был впервые использован Курцом [835] для выделения лизина из белковых гидролизатов в виде его нерастворимого ε-бензоильного производного и затем был применен для синтеза ε-карбобензокси-L-

[457], ε-карбоаллилокси-L- (и DL-) [460] и ε-тозильного [393] производных лизина (методика 108), а также δ-карбобензокси-L-[373], δ-карбобензокси-DL-[421] и δ-тозильного [423] производных орнитина. Использование этого метода обычно предусматривает предварительное взаимодействие α,ω-диаминокислоты (XXXIa) с карбонатом меди в водном растворе, последующее превращение полученного медного комплекса аминокислоты (XXXVIII) в соответствующее нерастворимое ω-ацильное производное (XXXIX) при обработке соответствующим хлорангидридом (R′Cl) в водном растворе едкого натра и, наконец, разложение (XXXIX) сероводородом с образованием нужной ω-ациламинокислоты (XL) (см. методику 108). Хотя этот метод является вполне удовлетворительным при применении его к синтезу ε-ацильных производных лизина, отмечены плохие выходы δ-ацильных и образование заметных количеств α,δ-диацильных производных в случае орнитина, связанные, по-видимому, с малой стабильностью медного комплекса последнего в условиях реакции [421]. Однако было отмечено, что использование в качестве основания окиси магния вместо едкого натра приводит к тому, что выходы δ-карбобензокси-DL-орнитина достигают 90% теории [429]; аналогичный метод был с успехом использован для синтеза γ-карбобензокси-L-α,γ-диаминомасляной кислоты. Превращение ряда отмеченных выше ω-анил-α,ω-диаминокислот в соответствующие метиловые или этиловые эфиры осуществляется действием метанольного или этанольного раствора хлористого водорода [373, 393, 423].

Типичная методика 108 [393]. ε-Тозил-L-лизин. К горячему раствору 24 *г* хлоргидрата L-лизина в 1500 *мл* воды медленно добавляют небольшими порциями 40 *г* карбоната меди. После окончания добавления реакционную смесь кипятят 2 *час*, фильтруют в горячем состоянии и кристаллический осадок промывают на фильтре 150 *мл* горячей воды. После охлаждения объединенный фильтрат и промывные воды обрабатывают 42 *г* бикарбоната натрия и раствором 37,8 *г* тозилхлорида в 1500 *мл* ацетона и полученную смесь интенсивно перемешивают в течение 10 *час*. Выпавший медный комплекс отфильтровывают, тщательно промывают большим количеством воды, ацетоном, эфиром и высушивают на воздухе; выход 30—33 *г*. Суспензию 30 *г* тонкорастертого медного комплекса в 500 *мл* кипящей воды обрабатывают при быстром перемешивании током сероводорода до полного разложения комплекса (около 0,5 *час*); затем кипячение продолжают для удаления избытка сероводорода. После обработки 5 *г* активированного угля и 15 *мл* 6 н. соляной кислоты смесь фильтруют через тонкую бумагу, путем добавления 4 н. раствора едкого натра pH фильтрата доводят до 6, через несколько часов продукт реакции отфильтровывают и промывают водой, а затем этанолом; выход 21,2 *г*. Очистку вещества можно провести путем его осаждения из солянокислого раствора добавлением едкого натра; т. пл. 237—238° (с разложением), $[\alpha]_D^{21}$ +13,6° (3%, в 2 н. соляной кислоте).

Сравнительно легкая доступность различных ε-ацильных производных лизина на основе применения медных комплексов послужила стимулом к использованию α,ε-диацильных производных лизина с двумя различными ацильными группами. Получение таких соединений может быть легко достигнуто обработкой соответствующего ε-ациллизина требуемым хлорангидридом в воднощелочной среде. Таким методом, путем α-карбобензоксилирования ε-тозил-L-лизина (XLI), Дю Виньо и сотрудники [393] получили α-карбобензокси-ε-тозил-L-лизин (XLII) (методика 109); аналогичным образом был получен и α-тозил-ε-карбобензокси-L-лизин [429]. Поскольку природа со-

единений этого типа такая, что одна из ацильных защитных групп может быть избирательно удалена без затрагивания другой, это привело к новым возможностям при пептидном синтезе. Так, например, конденсация XLII с этиловым эфиром глицина путем использования фосфитного метода (раздел 31) привела к соответствующему производному дипептида (XLIII); при его последующей обработке раствором бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте произошло селективное отщепление карбобензоксигруппы с образованием соединения XLIV, в котором α-аминогруппа может участвовать в дальнейших конденсациях [393].

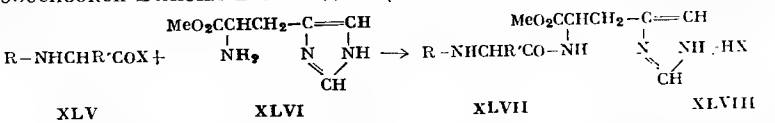


Типичная методика 109 [393]. α-Карбобензокси-ε-тозил-L-лизин. Раствор 12 *г* ε-тозил-L-лизина в 40 *мл* 1 н. раствора едкого натра охлаждают до 0° и в течение часа к нему поочередно добавляют небольшими порциями при перемешивании 8,5 *г* карбобензоксихлорида и 50 *мл* 1 н. раствора едкого натра. Перемешивание продолжают еще 30 *мин* и затем добавляют воду для растворения маслянистого осадка натриевой соли продукта реакции. Реакционную смесь промывают эфиром, водный слой подкисляют 6 н. соляной кислотой до pH 1,7 и экстрагируют этилацетатом. Этилацетатный раствор высушивают сульфатом магния и концентрируют в вакууме; остаток представляет собой вязкое зеленоватое масло, выход 18 *г*. После перекристаллизации из смеси этилацетата с гексаном т. пл. 85—88°; $[\alpha]_D^{21}$ —13,3° (1%, в 5%-ном бикарбонате натрия). Относительно получения ε-тозил-L-лизина см. методику 108.

Следует кратко рассмотреть некоторые другие производные орнитина и лизина, которые могут найти применение в синтетической пептидной химии. Получение δ-трифторацетил-L-орнитина [570] и ε-трифторацетил-DL-лизина (методика 44) действием этилового эфира трифтортиоуксусной кислоты на раствор соответствующей аминокислоты в слабощелочной водной среде, а также α-трифторацетил-L-орнитина [570] и α-трифторацетил-DL-лизина (методика 41) путем обработки аминокислоты трифторуксусным ангидридом в растворе трифторуксусной кислоты при 0° было описано ранее (раздел 17) и нет необходимости обсуждать его здесь еще раз. Несколько большее число стадий требуется для синтеза ε-тритил-L-(и DL-) лизина, а именно: а) взаимодействие тритилхлорида, хлоргидрата метилового эфира лизина и триэтиламина в хлороформном растворе с образованием метилового эфира α,ε-дитритиллизина, б) парциальное детритилирование последнего путем кипячения в смеси ацетона с соляной кислотой и в) омыление полученного метилового эфира ε-тритиллизина [550]. α-Формил-L-лизин может быть получен путем обработки ε-карбобензокси-L-лизина уксусным ангидридом в 98%-ной муравьиной кислоте и последующего декарбобензоксилирования промежуточно образующегося α-формил-ε-карбобензокси-L-лизина каталитическим гидрогенолизом [42]; реакция α-формил-L-лизина с биотинилхлоридом

и последующее удаление α-формильной группы мягким кислотным гидролизом приводят к ε-N-биотинил-L-лизину (биоцитину).

Имидазольное ядро. Получение пептидных производных (XLVII), в которых α-аминогруппа гистидина связана пептидной связью с С-концевой группой другого аминокислотного остатка, не представляет больших трудностей, поскольку конденсация метилового эфира гистидина (XLVI) (или другого амина, содержащего остаток гистидина) с соответствующим образом активированными ациламинокислотами (XLV) или пептидами протекает достаточно легко. В противоположность аналогичным синтезам, в которых участвуют остатки α,ω-диаминокислот, предварительная защита слабоосновного гистидинового остатка перед его введением в пептидный синтез не является необходимой. Возможность такого рода синтезов была показана в 1932 г. Бергманом, Зервасом и Гринстейном [626], которые действием азида дикарбобензокси-L-лизина (XLV; $x = N_3$) на метиловый эфир L-гистидина (XLVI) в хлороформном растворе получили метиловый эфир дикарбобензокси-L-лизил-L-гистидина (XLVII; R=Cbzo, R′=CbzoNH(CH2)4).

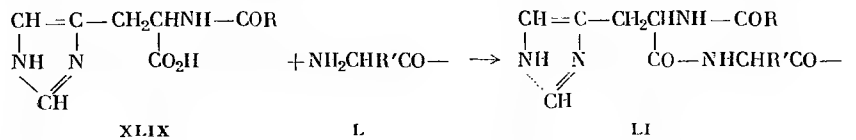


Аналогичным образом был получен затем ряд других пептидных производных с N-концевым гистидином путем использования азидного (раздел 26) [537, 690, 713, 718], хлорангидридного (раздел 27) [359, 836, 837], ангидридного (раздел 29) [508, 838] и карбодиимидного (раздел 36) [504, 714, 718] методов. Поскольку эксперимент показал, что эти реакции протекают в общем удовлетворительно без нежелательных осложнений и необходимости дополнительных операций, их подробное обсуждение здесь является излишним. Однако следует отметить ряд практических моментов. Так, если одним из компонентов реакции образования пептидной связи является метиловый эфир гистидина, то последний может быть применен а) в виде свободного основания, выделенного после нейтрализации раствора дихлоргидрата в воде смесью едкого натра с карбонатом натрия [718] или в метаноле — с помощью метилата натрия [141, 231] (методика 110), или б) в виде раствора дихлоргидрата в подходящем растворителе, содержащем 2 эквивалента третичного основания. Необходимо подчеркнуть также, что наличие в продукте конденсации имидазольного ядра, обладающего основными свойствами, делает невозможным промывание реакционной смеси разбавленной кислотой, часто используемое для удаления исходного аминокомпонента; обычно вместо этого реакционную смесь несколько раз промывают водой.

Типичная методика 110 [141, 231]. Метиловый эфир L-гистидина (свободное основание). Раствор 24,2 *г* дихлоргидрата метилового эфира L-гистидина (методика 49) в 250 *мл* горячего абсолютного метанола быстро охлаждают и к нему добавляют в возможно короткий срок (до начала кристаллизации) раствор 4,6 *г* натрия в 100 *мл* метанола. Путем добавления к раствору равного объема эфира осаждают хлористый натрий, смесь фильтруют и фильтрат концентрируют в вакууме досуха. Остаток растворяют в хлороформе, раствор фильтруют и фильтрат вновь выпаривают в вакууме досуха; получают нужный продукт реакции в виде сиропообразного остатка.

Если необходимы пептидные производные типа LI, в которых α-карбоксильная группа остатка гистидина соединена пептидной связью с α-ами-

ногруппой другого аминокислотного остатка, то в данном случае создание пептидной связи может быть осуществлено с помощью азидного метода конденсации соответствующего амина (L) с N-ацилгистидином (XLIX) или N-ацилированным пептидом, содержащим остаток гистидина. В связи с этим можно напомнить, что стандартный азидный метод предусматривает превращение гидразида в азид действием азотистой кислоты в кислой среде и последующую экстракцию азида инертным органическим растворителем (раздел 26).



Однако вследствие того, что имидазольное ядро проявляет основные свойства, азидные производные, содержащие остаток гистидина, не могут экстрагироваться из кислого раствора. Учитывая это, Холли и Зондхеймер в 1954 г. [695] получили азид карбобензокси-L-гистидина в водном растворе по обычному методу и затем экстрагировали этот азид этилацетатом после подщелачивания водного раствора карбонатом калия; обработка этилацетатного экстракта аминоэфиром привела к соответствующему пептидному производному. Использованный в этом синтезе гидразид карбобензокси-L-гистидина был получен путем ацилирования метилового эфира L-гистидина карбобензоксихлоридом в хлороформном растворе, содержащем триэтиламин, и последующей обработки образовавшегося метилового эфира карбобензокси-L-гистидина (в виде масла) гидразином в этанольном растворе (методика 111). Этот метод (или он же с незначительными видоизменениями) был затем успешно применен к синтезу большого числа N-концевых пептидов гистидина [537, 621, 713, 714, 718]. Особо следует отметить удобное видоизменение этого метода, предложенное Гофманом с сотрудниками [713] и заключающееся в конденсации азида карбобензокси-L-гистидина со свободной аминокислотой или пептидом в водно-щелочной среде, а также видоизмененный метод Дейвиса [621], который отказался от экстракции азида перед конденсацией и обрабатывал его кислый водный раствор непосредственно раствором соответствующего аминоэфира и избытка триэтиламина в хлороформе (методика 112).

Типичная методика 111 [695]. Гидразид карбобензокси-L-гистидина. Раствор, полученный из 1,5 *г* (6,2 *ммоля*) дихлоргидрата метилового эфира L-гистидина (методика 49), 12,4 *мл* очищенного хлороформа и 1,73 *мл* (12,4 *ммоля*) свежеперегнанного триэтиламина, охлаждают льдом и обрабатывают 0,68 *мл* (3,1 *ммоля*) свежеприготовленного карбобензоксихлорида (методика 27). Смесь перемешивают 2 *мин*, добавляют 0,87 *мл* (6,2 *ммоля*) триэтиламина и после растворения осадка добавляют еще 0,68 *мл* карбобензоксихлорида. Через 5 *мин* реакционную массу извлекают из бани со льдом, оставляют на 30 *мин* при комнатной температуре и затем промывают водой (3 × 5 *мл*). Хлороформный слой высушивают безводным сульфатом натрия и выпаривают в вакууме досуха. К остатку добавляют абсолютный этанол, выпаривают его в вакууме и эту операцию повторяют еще дважды; оставшееся масло растворяют в 3 *мл* абсолютного этанола и к полученному раствору добавляют 0,62 *мл* 100%-ного гидразингидрата. Примерно через 30 *мин* при комнатной температуре начинается кристаллизация гидразида. Спустя еще сутки смесь охлаждают, фильтруют, осадок промывают эфиром

и высушивают в вакууме; выход 0,93—1,17 *г* (50—62%). После перекристаллизации продукта реакции из кипящей воды т. пл. 171—173°.

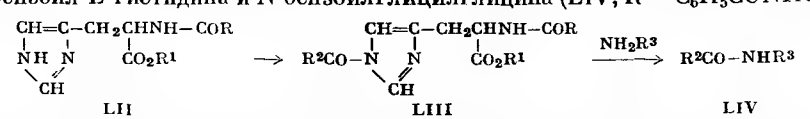
Типичная методика 112 [621]. Бензиловый эфир карбобензокси-L-гистидилглицина. Раствор 3,03 *г* карбобензокси-L-гистидингидразида (методика 111) в 100 *мл* 0,24 н. соляной кислоты охлаждают до 0° и обрабатывают 1,24 *г* нитрита натрия. Через 2 *мин* при интенсивном перемешивании добавляют раствор 2,1 *г* хлоргидрата бензилового эфира глицина (методика 57) и 2,8 *мл* триэтиламина в 50 *мл* холодного хлороформа. Смесь перемешивают 30 *мин* при охлаждении, хлороформный слой отделяют, промывают водой, высушивают безводным сульфатом натрия и выпаривают в вакууме досуха. Остаток растворяют в эфире и продукт реакции осаждают из эфирного раствора путем добавления петролейного эфира; выход 3,5 *г* (80%); т. пл. 134—136°.

Еще один путь создания пептидной связи между карбоксильной группой гистидинового остатка и N-концевой группой остатка другой аминокислоты заключается в использовании фосфитамидного (раздел 31) и карбодиимидного (раздел 36) методов. Так, Шварц, Бампус и Пейдж [508] описали получение

Cbzo-L-Val-L-Tyr-L-Ileu-L-His-L-Pro-L-Phe-OMe

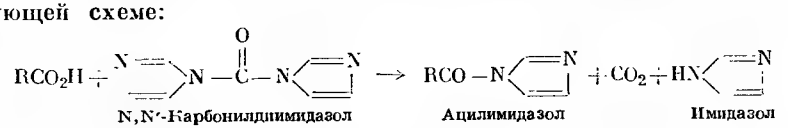
с выходом 60% путем обработки H-L-Pro-L-Phe-OMe диэтилхлорфосфитом и триэтиламином в этилацетатном растворе с последующим взаимодействием образовавшегося диэтилфосфитамида с Cbzo-L-Val-L-Tyr-L-Ileu-L-His-OH в растворе диэтилфосфита. Кроме того, Окава [828] показал, что конденсация N-карбобензокси-O-бензил-L-серил-L-гистидина с метиловым эфиром L-лейцина с помощью N,N′-дициклогексилкарбодиимида в смеси диоксана с тетрагидрофураном протекает очень легко и с выходом 64% приводит к соответствующему защищенному трипептиду. Успешное использование карбодиимида в этом случае оказалось возможным благодаря хорошей растворимости N-карбобензокси-O-бензил-L-серил-L-гистидина в различных инертных органических растворителях, например в диоксане и хлороформе, что позволяло проводить реакцию конденсации в гомогенной среде; аналогичная реакция с N-карбобензокси-L-гистидином невозможна вследствие его нерастворимости в подходящих органических растворителях.

Поскольку имидазольное ядро гистидина проявляет слабоосновные свойства (p*K* равно примерно 6), при некоторых условиях оно может вступать в реакции замещения. Эти реакции были изучены в классической работе Бергмана и Зерваса [839], посвященной *im*-N,α-N-диацилгистидинам. Эти авторы показали, что обработка метилового эфира N-бензоил-L-гистидина (LII; $R = C_6H_5$, $R^1 = CH_3$) гиппурилхлоридом в бензольном растворе приводит к образованию соответствующего *im*-N-гиппурилпроизводного (LIII; $R^2 = C_6H_5CONHCH_2$). Чрезвычайная чувствительность образующейся новой амидной связи к аминолизу была обнаружена на основании того факта, что взаимодействие LIII в хлороформном растворе с натриевой солью глицина (в водном растворе) привело к выделению метилового эфира N-бензоил-L-гистидина и N-бензоилглицилглицина (LIV; $R^2=C_6H_5CONHCH_2$;

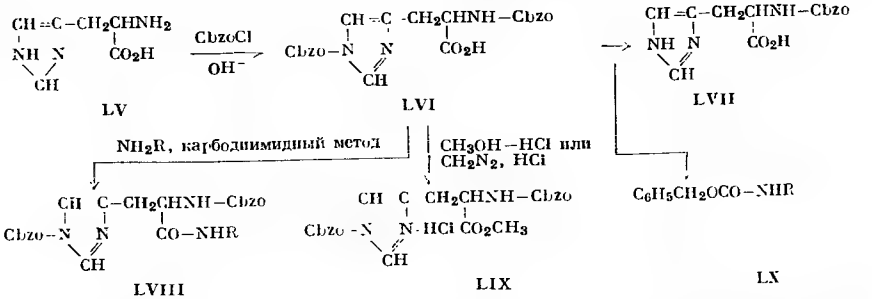


$R^3 = CH_2CO_2H$) из хлороформного и водного слоев соответственно. Аналогичная миграция ацетильной группы на α-аминогруппу остатка аминокис-

лоты наблюдалась и при обработке метилового эфира N-бензоил-*im*-N, α-N-диацетил-L-гистидина (LIII; R=C_6H_5, R^1= R^2 = CH_3) L-аргинином, глицином и этиловым эфиром глицина в сравнимых условиях. Справедливость этих экспериментальных данных была подтверждена примерно через четверть века Виландом и Шнейдером [840], которые, исходя из карбобензоксиглицина и метилового эфира гистидина, получили метиловый эфир *im*-N,α-N-ди-(карбобензоксиглицил)-L-гистидина (LIII; R^1 = CH_3; R = R^2 = = $C_6H_5CH_2OCONHCH_2$) путем использования метода смешанных ангидридов (с алкилугольной кислотой) и показали способность полученного производного к переносу его *im*-N-карбобензоксиглицинового остатка на аминогруппу анилина и метилового эфира аланина. Реакции этого типа послужили основой нового метода образования пептидной связи, предложенного в 1958 г. Андерсоном и Полом [840а], которые вместо N-ацилгистидина использовали N,N-карбонилдиимидазол. Эти исследователи показали, что данный реагент легко взаимодействует с карбоксильной группой N-ациламинокислоты в тетрагидрофурановом растворе при комнатной температуре согласно следующей схеме:



Образующийся при этом ацилимидазол обрабатывается (без выделения) аминокислотой или ее эфиром в среде органического растворителя или в водном растворе (в виде соли щелочного металла), давая нужное N-ацильное производное пептида. В связи с этим интересно отметить, что выходы продуктов реакции, полученных путем использования тетраэтилпирофосфитного метода (раздел 31), могут быть иногда значительно улучшены, а скорость образования пептидной связи может быть увеличена примерно вдвое, если в реакционную среду добавить эквивалентное количество имидазола (считая на используемую аминокислоту или пептид); напротив, никакого улучшения не наблюдается в случае азидного метода или метода смешанных ангидридов [840б]. Поскольку основная природа имидазольного ядра придает N-карбобензоксигистидину заметный диполярный характер, это соединение вообще не растворяется в большинстве обычных органических растворителей и поэтому находит лишь ограниченное применение в синтезе пептидов. Этого осложнения можно было бы избежать, если бы перед стадией конденсации удалось защитить иминогруппу имидазольного ядра, проявляющую основные свойства. В связи с этим Пачорник, Бергер и Качальский [483] действием 2 эквивалентов карбобензоксихлорида на 1 эквивалент L-гистидина (LV) в водном растворе при 0° и pH от 9 до 10 с последующим доведением pH реакционной смеси до 2,4 получили дикарбобензокси-L-гистидин (LVI) (методика 113); то, что основность имидазольного ядра в этом соединении подавлена не полностью, подтверждается амфотерной природой дикарбобензоксипроизводного, а также его способностью превращаться в соответствующий хлоргидрат метилового эфира (LIX) при обработке метанольным раствором HCl или диазометаном и затем хлористым водородом. Хотя сырой *im*-N,α-N-дикарбобензокси-L-гистидин быстро разлагается при комнатной температуре с образованием N-карбобензокси-L-гистидина (LVII), после кристаллизации из метанола или этанола он становится значительно более устойчивым. Как и в случае других описанных выше *im*-N,α-N-диацильных производных гистидина, дикарбобензокси-L-гистидин (LVI) претерпевает легкое декарбобензоксилирование при обработке такими нуклеофильными реагентами, как аммиак и анилин с образованием соответствующего бензилуретана (LX; R = H или C_6H_5) и N-карбобензокси-L-гистидина (LVII); последнее соединение (LVII) получается также при действии раствора едкого кали в этаноле на LVI (методика 114). В коротком сообще-



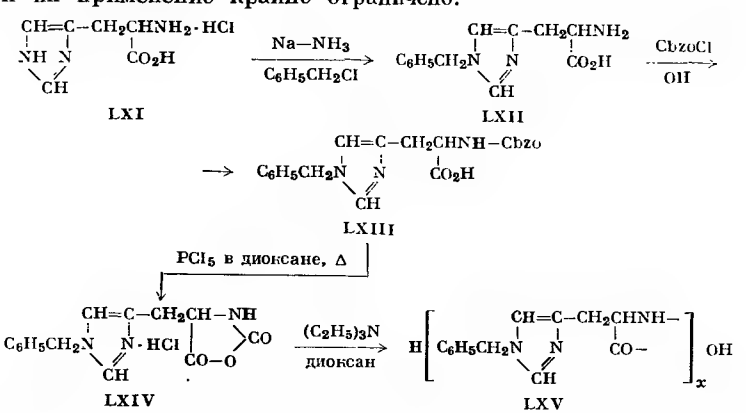
нии Акабори, Окава и Сакияма [841] независимо описали синтез *im*-N, α-N-дикарбобензокси-L-гистидина и использовали легкую растворимость этого соединения в таких инертных органических растворителях, как этилацетат, диоксан, хлороформ и тетрагидрофуран для введения его в конденсацию с эфирами различных аминокислот. Конденсация дикарбобензокси-L-гистидина (LVI) с метиловым эфиром L-лейцина, метиловым эфиром O-бензил-L-серина, диэтиловым эфиром L-глутаминовой кислоты, метиловым эфиром L-треонина и метиловым эфиром L-метионина с помощью дициклогексилкарбодиимида в диоксановом или хлороформном растворе привела с выходом 68—85% к соответствующим дипептидам.

Типичная методика 113 [483]. *im*-N,α-N-Дикарбобензокси-L-гистидин. К охлажденному льдом раствору 10,5 *г* хлоргидрата L-гистидина (гидрата) в 50 *мл* 2 н. раствора едкого натра добавляют 17 *мл* карбобензоксихлорида (методика 27) десятью равными порциями. После каждого добавления реагента смесь энергично встряхивают 2 *мин* с периодическим охлаждением, причем ее pH поддерживают в интервале от 9 до 10 путем добавления 2 н. раствора едкого натра; на это требуется в целом около 60 *мл* щелочи. После окончания реакции смесь подкисляют до pH 2,4 холодной 4 н. соляной кислотой, выпавший белый осадок уплотняют путем интенсивного встряхивания, отфильтровывают и немедленно перекристаллизовывают из метанола. Продукт реакции кристаллизуется в виде сольвата с одной молекулой метанола: выход 16 *г* (70%), т. пл. 105—107° (с разложением), $[\alpha]_D^{20}$ +15,3° (6,3% в 80% ацетона — 20% этанола). Если для кристаллизации используют этанол, то продукт реакции выделяется в виде сольвата с одной молекулой этанола [483]; в случае кристаллизации из водного ацетона образуется несольватированное соединение [841]. *Следует отметить, что кристаллический дикарбобензоксигистидин крайне неустойчив при хранении и при стоянии в течение нескольких недель в вакууме при комнатной температуре претерпевает почти полное разложение до N-карбобензоксигистидина; если же кристаллизация сырого продукта реакции не произведена своевременно, то такое разложение происходит за несколько часов* [483].

Типичная методика 114 [483]. N-карбобензокси-L-гистидин. К суспензии 4,69 *г* *im*-N,α-N-дикарбобензокси-L-гистидина (содержит 1 моль C_2H_5OH) (методика 113) в 10 *мл* этанола добавляют 10 *мл* 1 н. спиртового раствора едкого кали и реакционную смесь оставляют при комнатной тем-

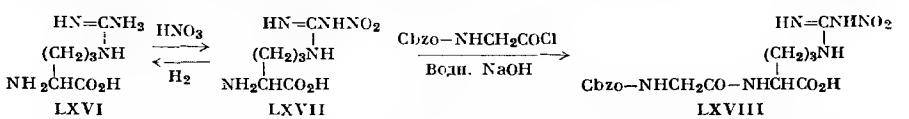
пературе на 5 *мин*. Затем смесь нейтрализуют 10 *мл* 1 н. водной хлорной кислоты и осадок перхлората калия отфильтровывают. Фильтрат концентрируют в вакууме до объема около 5 *мл*, добавляют 20 *мл* этанола и 20 *мл* бензола и смесь выпаривают в вакууме досуха. Остаток обрабатывают 15 *мл* горячего этанола и нерастворившийся перхлорат калия отфильтровывают. Путем добавления к фильтрату 10 *мл* ацетона осаждают кристаллический продукт реакции; выход 2,3 *г* (80%). После перекристаллизации из этанола т. пл. 166—167°, $[\alpha]_D^{22}$ —25° (6%, в 6 н. соляной кислоте).

Как было показано Дю Виньо и Беренсом [842], бензильная группа *im*-N-бензил-L-гистидина может быть легко удалена при восстановительном действии натрия в жидком аммиаке; это соединение (LXII) было получено путем обработки раствора хлоргидрата L-гистидина (LXI) в жидком аммиаке металлическим натрием с последующим добавлением к реакционной смеси хлористого бензила (методика 115). Таким образом, было найдено средство защиты реакционноспособного имидазольного ядра гистидина. Превращение *im*-N-бензил-L-гистидина (LXII) в его N-карбобензоксипроизводное (LXIII) может быть легко осуществлено обработкой карбобензоксихлоридом в условиях Шоттена — Баумана (см. методику 28); после кристаллизации из пиридина продукт реакции имеет т. пл. 216° (с разложением) [369]. То, что это соединение может служить исходным веществом для получения поли-L-гистидина, было установлено Пачорником, Бергером и Качальским [370], которые превратили его в соответствующий N-карбоксиангидрид (хлоргидрат) (LXIV) действием пятихлористого фосфора в диоксановом растворе. Полимеризация LXIV легко происходит при комнатной температуре при добавлении триэтиламина в диоксане, в то время как полное удаление *im*-N-бензильных групп с полученного полимера (LXV) достигается путем использования метода восстановления натрием в жидком аммиаке. *im*-N-Бензильные производные гистидина могут быть также использованы и в ступенчатом синтезе пептидов, хотя до настоящего времени их применение крайне ограничено.



Типичная методика 115 [842]. *im*-N-Бензил-L-гистидин. В круглодонную трехгорлую колбу емкостью 500 *мл*, снабженную механической мешалкой с ртутным затвором и содержащую 200 *мл* безводного жидкого аммиака, добавляют 20 *г* монохлоргидрата L-гистидина (моногидрата) и смесь охлаждают в бане с трихлорэтиленом и сухим льдом. Затем к смеси маленькими кусочками добавляют натрий до появления устойчивой синей окраски, свидетельствующей об избытке натрия; на это требуется около 9 *г* натрия. Смесь обесцвечивают путем добавления небольшого количества гистидина и к светло-коричневому раствору, содержащему белый осадок, при интенсивном перемешивании медленно добавляют по каплям из небольшой делительной воронки 12 *мл* хлористого бензила. Реакционную массу перемешивают еще 30 *мин* и оставляют при комнатной температуре для испарения большей части аммиака; затем колбу эвакуируют для удаления последних следов аммиака. Остаток растворяют в 100 *мл* ледяной воды, раствор немедленно промывают эфиром для удаления избытка хлористого бензила и через водный слой пропускают воздух до полного исчезновения запаха эфира. Раствор фильтруют, затем к нему при перемешивании медленно добавляют разбавленную серную кислоту до начала выпадения осадка (pH 8,0—8,5). Смесь оставляют на 3 *час* при 4°, фильтруют и осадок перекристаллизовывают из 70%-ного этанола; выход 13,4 *г* (57%), т. пл. 248—249° (с размягчением при 243°), $[\alpha]_D^{23}$ +20,5° (2%, в воде, содержащей 1 эквивалент HCl).

Гуанидиногруппа. Вследствие сложности гуанидиновой группировки введение в синтетические пептиды молекулы аргинина, обладающей сильными основными свойствами, представляют собой более сложную проблему, чем в случае любой другой аминокислоты, содержащейся в белках. Согласно принятым в настоящее время принципам синтеза, для успешного создания пептидной связи между остатком аргинина и остатком другой аминокислоты необходимо, чтобы основность первого компонента была полностью подавлена перед его введением в реакцию конденсации. Для этой цели проявляющую основные свойства гуанидиновую группировку обычно защищают путем а) замещения нитрогруппой, б) образования соли с галогеноводородом или в) ацилирования. Первый из этих методов был предложен в 1934 г. Бергманом, Зервасом и Ринке [492], которые использовали сильные электроотрицательные свойства нитрогруппы для подавления основности гуанидиновой группировки, вследствие чего облегчили введение аргининового остатка в пептиды. Предварительные эксперименты в этом направлении показали, что нитро-L-аргинин (LXVII), полученный прямым нитрованием аргинина (LXVI) смесью дымящей азотной и дымящей серной кислот на холоду, может быть превращен обратно в исходную аминокислоту без заметной потери оптической активности путем каталитического восстановления в присутствии палладия. Этим была создана возможность для синтеза пептидных производных, в которых остаток нитроаргинина мог быть легко превращен в аргининовый остаток. Так, карбобензоксиглицилнитро-L-



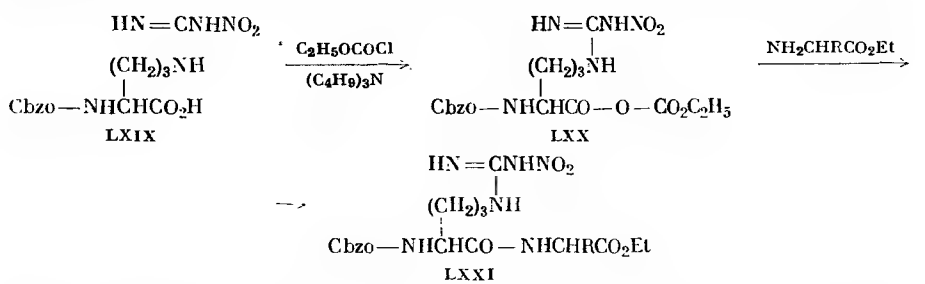
аргинин (LXVIII), образовавшийся при действии хлорангидрида карбобензоксиглицина на нитро-L-аргинин (LXVII) в водно-щелочном растворе, был без труда превращен в глицил-L-аргинин (выделенный в виде сульфата) путем гидрирования при нормальной температуре и обычном давлении в присутствии палладиевой черни. Аналогично был получен затем ряд других пептидов с С-концевым аргинином путем конденсации карбобензоксиаминокислоты с нитро-L-аргинином, соответствующим его эфиром или пептидом в инертном органическом растворителе или в водно-щелочной среде с помощью азидного метода [678, 713], метода смешанных ангидридов

[491, 541] и карбодиимидного метода [678]. В связи с этим необходимо отметить осуществленное Гофманом с сотрудниками [713] получение

Cbzo-L-Glu(NH_2)-L-His-L-Phe-L-NO_2-Arg-OH

путем действия азида карбобензокси-L-глутамина на L-гистидил-L-фенилаланилнитро-L-аргинин в водном растворе, содержащем в качестве основания триэтиламин.

Хотя нитроаргининовый метод Бергмана, Зерваса и Ринке [492] сделал легко доступными пептиды с С-концевым аргинином, примерно в течение двадцати лет после введения этого метода не было известно случаев его успешного приложения для синтеза пептидов с N-концевым аргинином. Поскольку условия превращения карбобензоксинитро-L-аргинина в соответствующий хлорангидрид или азид ведут к большому числу побочных реакций, все первоначальные попытки использования этих реакционноспособных производных в пептидном синтезе оказались неудачными [843]. Однако с введением в 1950 г. в синтетическую химию пептидов метода смешанных ангидридов (раздел 29) был найден путь, с помощью которого карбоксильная группа аргининового остатка могла связываться пептидной связью с аминогруппой другого аминокислотного остатка. Этот метод был впервые использован в 1953 г. Гофманом, Рейнером и Пекхемом [491, 844], которые успешно превратили карбобензоксинитро-L-аргинин (LXIX) в соответствующий смешанный ангидрид (LXX) действием этилового эфира хлоруглеродной кислоты и третичного амина в диоксановом растворе; обработка LXX без выделения метиловыми и этиловыми эфирами различных аминокислот привела к соответствующим защищенным дипептидам (LXXI).



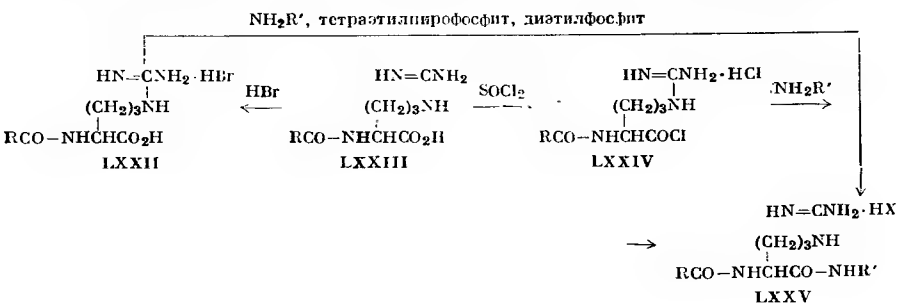
Аналогичные синтезы были вскоре после этого независимо описаны Ван-Орденом и Смитом [541] и затем распространены на другие соединения Берсе и Пишом [513], использовавшими в качестве N^{α}-защитной группировки *п*-нитрокарбобензоксигруппу, а также Цаном и Дилем [678], применившими в качестве конденсирующего агента N, N′-дициклогексилкарбодиимид. В обширном исследовании Идзумии и Макисуми [845] было проведено сравнительное изучение конденсации карбобензоксинитро-L-аргинина с бензиловыми эфирами различных аминокислот с помощью метода смешанных ангидридов и карбодиимидного метода, причем было показано, что в первом случае выходы продуктов реакции составляют 40—50%, а во втором — 70—80% (методика 116). Характерной особенностью этих синтезов является то, что каталитическое восстановление полученных бензиловых эфиров карбобензоксинитро-L-аргиниламинокислот приводит к одновременному удалению карбобензокси-, бензильной и нитрогрупп в одну стадию.

Типичная методика 116 [845]. Дибензиловый эфир карбобензоксинитро-L-аргинил-L-глутаминовой кислоты. Карбобензоксинитро-L-аргинин получают из нитро-L-аргинина в условиях синтеза соответствующего производного глицина (методика 28). Выделенное кристаллическое вещество промывают ледяной водой, растирают с эфиром и затем перекристаллизовывают из разбавленного этанола; т. пл. 134—136°, $[\alpha]_D^{22}$ —3,5° (1,0%, в метаноле) [491]. Раствор 2.12 *г* карбобензоксинитро-L-аргинина в 24 *мл* тетрагидрофурана обрабатывают раствором 3 *г* *п*-толуолсульфоната дибензилового эфира L-глутаминовой кислоты (см. методику 56) и 0,84 *мл* триэтиламина в 24 *мл* хлороформа. К смеси при комнатной температуре добавляют при перемешивании в течение нескольких минут 1,26 *г* N,N′-дициклогексилкарбодиимида (методика 84). Выпавший осадок N,N′-дициклогексилмочевины примерно через 4 *час* отфильтровывают, промывают небольшим количеством хлороформа и объединенный органический раствор последовательно промывают водой, 4%-ным раствором бикарбоната натрия, водой, 2%-ной соляной кислотой и снова водой. Хлороформный раствор высушивают затем безводным сульфатом натрия и выпаривают в вакууме досуха. Кристаллизацию остатка проводят из смеси метанола с эфиром и петролейным эфиром; выход 2.91 *г* (73%), т. пл. 107—109° (с размягчением при 87°), $[\alpha]_D^{26}$ —11,0° (2%, в уксусной кислоте).

Тот факт, что ярко выраженный основной характер гуанидиновой группы аргинина может быть с успехом использован в синтезе пептидов с N-концевым аргинином, был отмечен независимо двумя группами исследователей [363, 471] в том же номере журнала, в котором напечатано первое сообщение Гофмана, Рейнера и Пекхема [844]. Объяснение этому приведено в первой из указанных работ [363]:

«Поскольку p*K* гуанидиновой группы равно примерно 12,5, в то время как p*K*α-аминогруппы эфиров аминокислот составляет около 8, p*K* аммиака — около 9 и p*K* анилина — около 5, то в присутствии эквивалентных количеств этих или каких-либо других оснований сравнимой силы с протоном будет связываться преимущественно гуанидиновая группа. Таким образом, можно защитить реакционноспособную гуанидиновую группу путем ее взаимодействия с протоном, переводя ее в положительно заряженную форму (либо в виде внутренней соли, либо в виде хлоргидрата или аналогичной соли), и создать возможность для селективной реакции хлорангидрида или другого реакционноспособного соединения с незаряженной α-аминогруппой или другой группой близкой основности».

Принимая во внимание изложенное выше, Гиш и Карпентер [363] обработали *п*-нитрокарбобензокси-L-аргинин (LXXIII; R = NO_2 — C_6H_4— CH_2O) тионилхлоридом и образующийся хлоргидрат хлорангидрида (LXXIV) вводили в конденсацию с анилином, аммиаком или эфиром аминокислоты в подходящем органическом растворителе, получая соответствующие пен-



тидные производные (LXXV; X = Cl). С другой стороны, Андерсон [471] для защиты гуанидиногруппы карбобензокси-L-аргинина [LXXIII; R = = $C_6H_5CH_2O$) переводил последний в бромгидрат (LXXII) и далее вводил его в реакцию с эфиром аминокислоты, используя в качестве конденсирующего агента тетраэтилпирофосфит в растворе диэтилфосфита (раздел 31). Аналогичный метод был затем использован Дю Виньо, Гишем и Кацояннисом [510, 846] для введения аргининового остатка в синтетические предшественники аргининвазопрессина, т. е.

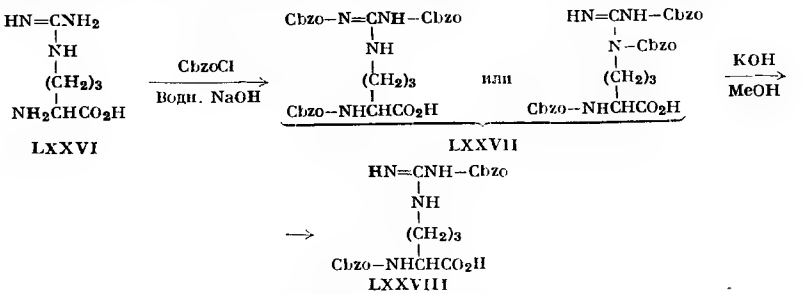
Cbzo-CySBz-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH + H-CySBz-Pro-Arg-Gly-NH_2·HBr

↓ Пирофосфитный метод

Cbzo-CySBz-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Arg-Gly-NH_2·HBr

Сравнительно недавно конденсирующее действие этилхлорфосфита (раздел 31) и N,N′-дициклогексилкарбодиимида (раздел 36) было успешно использовано для создания пептидной связи между галогенгидратом карбобензокси-L-аргинина и эфиром аминокислоты [758, 847], а также между карбобензоксиаминокислотой и галогенгидратом эфира L-аргинина [678, 847].

Если основность гуанидиновой группы аргинина может быть полностью подавлена путем ее сочетания с подходящей ацильной защитной группой, то должен оказаться возможным альтернативный путь синтеза аргининовых пептидов. Здесь целесообразно отметить, что основные свойства гуанидиногруппы в таких N^{α},N^{ω}-диацил-L-аргининах, как дибензоильное [848], дибензолсульфонильное [849], ди-*n*-нитрокарбобензокси- [362] дибензилсульфонильное [601] производные, ни в коей мере не являются полностью подавленными. Этот факт был установлен в 1928 г. одновременно Феликсом и Дирром [848], а также Зервасом и Бергманом [142], которые описали хлоргидрат N^{α},N^{ω}-дибензоиларгинина, и сравнительно недавно подтвержден Гишем и Карпентером [363], определившими кажущиеся константы диссоциации N^{α},N^{ω}-ди-*n*-нитрокарбобензоксиаргинина и сообщившими о безуспешных попытках использовать это соединение в пептидном синтезе. Благодаря исследованиям Зервиса [458, 459], проведенным в 1956 г. и затем в 1957—1958 гг. во время его пребывания в лаборатории автора и посвященным синтезу L-аргинил-L-аргинина, была создана возможность еще раз изучить потенциальную применимость N-ациларгининов в качестве промежуточных соединений при синтезе пептидов. В частности, была сделана попытка получить не описанное к тому времени N^{α}, N^{ω}-дикарбобензоксипроизводное L-аргинина путем обработки *сильнощелочного* раствора аминокислоты (LXXVI) 2—4 эквивалентами карбобензоксихлорида в условиях Шоттена — Баумана. Во время этой реакции осаждалось нерастворимое вещество, которое отфильтровывали на холоду, промывали холодным раствором карбоната натрия и затем растворяли в хлороформе, не содержащем спирта; при концентрировании этого раствора в вакууме был получен маслообразный остаток, который затвердел при обработке эфиром. Элементарный анализ сырого продукта реакции неожиданно оказался соответствующим натриевой соли трикарбобензокси-L-аргинина. Это соединение могло быть превращено или а) в соответствующую свободную кислоту (LXXVII) путем очистки из этанольного раствора ацетата натрия и последующей нейтрализации кристаллической натриевой соли серной кислотой (методика 117), или б) в N^{α}, N^{ω}-дикарбобензокси-L-аргинин (LXXVIII) путем обработки раствором едкого кали в метаноле (методика 118). Во всяком случае, легкая доступность N^{α},N^{ω},N^{ω}-трикарбобензокси- (LXXVII) и N^{α},N^{ω}-дикарбобензоксипроизводных (LXXVIII) аргинина, в которых реакционная способность сильноосновной гуанидиновой группы полностью или частично подавлена селективно удаляемым ацильным заместителем, представляет в наше распоряжение соединения, которые потенциально могут являться промежуточными веществами в синтезе пептидов с N-концевым аргинином.



Типичная методика 117 [459, 904]. N^{α},N^{ω},N^{ω}-Трикарбобензокси-L-аргинин. Раствор 35 *г* L-аргинина (свободное основание) в 200 *мл* 1 н. раствора едкого натра охлаждают до —10° и при интенсивном перемешивании обрабатывают 100 *мл* предварительно охлажденного 2 н. раствора едкого натра и 27 *мл* свежеприготовленного карбобензоксихлорида. Через 3—4 *мин* добавляют еще 100 *мл* предварительно охлажденного 2 н. раствора едкого натра и 27 *мл* карбобензоксихлорида. Такие добавления реагентов проводят еще трижды с интервалами в 5 *мин* и после окончания добавления смесь интенсивно перемешивают при охлаждении еще 20—30 *мин*. Выпавший в процессе реакции белый осадок отфильтровывают на холоду, быстро отжимают для удаления жидкости, промывают 100 *мл* охлажденного до 0° 5%-ного раствора карбоната натрия и остаток снова быстро отжимают. Полученную таким образом сырую натриевую соль растворяют приблизительно в 800 *мл* хлороформа и после удаления небольшого водного слоя хлороформный раствор промывают последовательно 5%-ным раствором карбоната натрия (2 × 100 *мл*), 2 н. серной кислотой (2 × 100 *мл*), несколько раз водой и затем высушивают при комнатной температуре. После высушивания безводным сульфатом натрия хлороформный раствор концентрируют при пониженном давлении при 35—40° почти досуха и последние следы хлороформа удаляют путем добавления абсолютного этанола и последующего упаривания в вакууме. К оставшемуся сиропу добавляют 200—220 *мл* горячего этанольного раствора 27 *г* ацетата натрия (тригидрата), смесь вначале кипятят 2 *мин* при перемешивании, а затем оставляют при комнатной температуре на 12—20 *час*, в течение которых из раствора выпадает в виде игл кристаллическая натриевая соль. Ее отфильтровывают, промывают 30 *мл* абсолютного этанола и влажный осадок экстрагируют 100 *мл* кипящего этилацетата. При охлаждении этилацетатного раствора до 4° выпадает осадок, который отфильтровывают, промывают 20 *мл* холодного этилацетата и, не высушивая, вновь растворяют в минимальном количестве горячего абсолютного этанола. Осадок очень чистой натриевой соли трикарбобензокси-L-аргинина после выдерживания при 4° в течение 24 *час* отфильтровывают с отсасыванием и промывают вначале небольшим количеством холодного абсолютного этанола, а затем эфиром; выход 21—24 г.

5 *г* полученной кристаллической натриевой соли суспендируют в 200 *мл* этилацетата и медленно переводят в раствор путем интенсивного встряхивания с 50 *мл* 2%-ной серной кислоты. Этилацетатный слой отделяют и промывают вначале 50 *мл* 2%-ной серной кислоты, затем трижды водой, высушивают безводным сульфатом натрия и выпаривают в вакууме досуха. Полу-

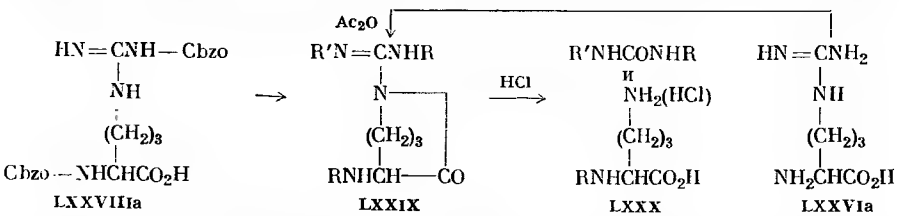
ченный кристаллический осадок растирают с петролейным эфиром и отсасывают; выход 3,8 *г*, т. пл. 135°. После двух перекристаллизаций из этилацетата температура плавления повышается до 138—139°; $[\alpha]_D^{25}$ + 15,5° (1%, в спирте, не содержащем хлороформа).

Типичная методика 118 [459, 904]. N^{α},N^{ω}-Дикарбобензокси-L-аргинин. Карбобензоксилирование 34,8 *г* L-аргинина (свободное основание) проводят в условиях Шоттена — Баумана, как описано в методике 117, и образующийся осадок натриевой соли трикарбобензокси-L-аргинина отфильтровывают под вакуумом на холоду и промывают 200 *мл* холодного 5%-ного раствора карбоната натрия. Влажный осадок при охлаждении в бане со льдом и перемешивании растворяют примерно в 500 *мл* 95%-ного этанола, содержащего 15 *г* едкого кали. Затем раствор оставляют при комнатной температуре на 2 *час*, добавляют около 300 *мл* воды и реакционную смесь концентрируют в вакууме при 30—35° до объема примерно 300—400 *мл*. Добавляют приблизительно 400 *мл* воды и избыток уксусной кислоты, смесь охлаждают и полученный сироп несколько раз промывают ледяной водой путем декантации. Затем сироп растворяют примерно в 400—500 *мл* горячего метанола и раствор оставляют охлаждаться вначале при комнатной температуре, а затем в холодильнике. Выпавший осадок продукта реакции отфильтровывают и промывают метанолом; выход 52 *г*, т. пл. 147°. Очистку осуществляют путем растворения вещества в разбавленном растворе карбоната калия, подкисления и последующей кристаллизации осадка из горячего метанола; т. пл. 150°.

Принимая во внимание изложенное выше, становится ясным, что ввиду полностью подавленной основности гуанидиновой группы трикарбобензокси-L-аргинина открывается удобный путь синтеза пептидов с N-концевым аргинином. Действительно, конденсация трикарбобензокси-L-аргинина с бензиловыми эфирами L-аланина, L-аспарагиновой кислоты, L-глутаминовой кислоты, глицина, L-изолейцина, D-*алло*-изолейцина, L-лейцина, L-фенилаланина, L-тирозина и L-валина методом смешанных ангидридов (раздел 29) или карбодиимидным методом (раздел 36) протекает легко и без осложнений и позволяет получить соответствующие бензиловые эфиры трикарбобензокси-L-аргиниламинокислот с высоким выходом [459, 904]. Последующий каталитический гидрогенолиз продуктов конденсации в присутствии палладиевой черни (раздел 44) приводит к одновременному удалению карбобензокси- и бензильных групп с образованием свободных пептидов. Другой путь к этим пептидам заключается в конденсации N^{α},N^{ω}-дикарбобензокси-L-аргинина с хлоргидратами эфиров аминокислот с помощью дициклогексилкарбодиимида в отсутствие основания и последующем омылении и каталитическом гидрогенолизе полученных эфиров N^{α},N^{ω}-дикарбобензокси-L-аргиниламинокислот. Напротив, конденсации практически не происходит, если в качестве свободного основания используется избыток эфира аминокислоты; этот факт может быть объяснен тем, что в данном случае конденсации предшествует миграция протона с эфира аминокислоты на биполярный N^{α},N^{ω}-дикарбобензоксиаргинин. Следовательно, N^{α},N^{ω},N^{ω}-три- и N^{α},N^{ω}-дикарбобензоксиаргинины могут быть удовлетворительно использованы в синтезе пептидов с N-концевым аргинином.

В процессе описанной выше конденсации N^{α},N^{ω}-дикарбобензокси-L-аргинина с эфиром аминокислоты из реакционной смеси осаждается кристаллический побочный продукт, данные элементарного анализа и химические свойства которого полностью отвечают N^{α},N^{ω}-дикарбобензоксиангидро-L-

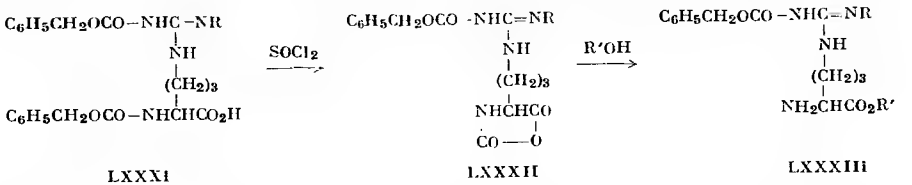
аргинину (LXXIX; R = Cbzo, R′ = H), $[\alpha]_D^{25}$ = —12,4° в хлороформе, т. пл. 147° [904]. Синтез этого соединения (LXXIX) может быть легко и с высоким выходом осуществлен или путем обработки N^{α},N^{ω}-дикарбобензокси-L-аргинина (LXXVIIIa) дициклогексилкарбодиимидом в присутствии каталитических количеств сильной кислоты, или действием третичного основания на хлоргидрат хлорангидрида N^{α},N^{ω}-дикарбобензокси-L-аргинина. Обработка LXXVIIIa или LXXIX (R = Cbzo, R′ = H) уксусным ангидридом при комнатной температуре приводит к образованию промежуточного соединения (LXXIX; R = Cbzo, R′ = CH_3CO), которое при действии холодной 5 н. соляной кислоты дает смесь продуктов реакции, из которой могут быть выделены N-ацетил-N′-карбобензоксимочевина и хлоргидрат α-карбобензокси-L-орнитина ($[\alpha]_D^{25}$ = —11,5° в воде) (LXXX; R = Cbzo, R′ = CH_3CO). Соединение LXXIX (R = Cbzo, R′ = CH_3CO), по-видимому, образуется в результате предварительной активации карбоксильной группы дикарбобензоксиаргинина (LXXVIIIa) конденсирующим агентом и последующей внутримолекулярной циклизации. Образование такого рода производных ангидроаргинина находится в согласии с данными Бергмана и Кёстера [296], показавшими в 1926 г., что при обработке L-аргинина (LXXVIa) избытком уксусного ангидрида (при кипячении) образуется триацетилан-



гидро-DL-аргинин (LXXIX; R = R′ = CH_3CO), который после разложения водой превращается в смесь N,N′-диацетилмочевины и α-ацетилорнитина (LXXX; R = R′ = CH_3CO). Аналогичным образом происходит превращение нитро-L-аргинина в N^{α}-ацетилангидронитро-DL-аргинин при действии уксусного ангидрида в кипящей ледяной уксусной кислоте [848a]. Внутримолекулярная циклизация, сопровождающая реакции этого типа, может быть связана с тем, что основность гуанидиновой группы в исходных производных аргинина подавлена не полностью. В связи с этим целесообразно отметить, что обработка полностью защищенного трикарбобензокси-L-аргинина уксусным ангидридом не приводит к образованию соответствующих ангидропроизводных [905].

Отмеченные выше N^{α},N^{ω},N^{ω}-трикарбобензокси- и N^{α},N^{ω}-дикарбобензоксипроизводные аргинина могут служить также удобными промежуточными соединениями в синтезе пептидов с C-концевым аргинином (после снятия N^{α}-карбобензоксигруппы одним из подходящих методов) [459, 904]. Так, обработка первого соединения (LXXXI; R = $C_6H_5CH_2OCO$) хлористым тионилом с последующим гидролизом образовавшегося N-карбоксиангидрида (LXXXII) приводит к образованию N^{ω},N^{ω}-дикарбобензокси-L-аргинина (LXXXIII; R = $C_6H_5CH_2OCO$, R′ = H). При аналогичной обработке N^{α},N^{ω}-дикарбобензокси-L-аргинина (LXXXI; R = H) хлористым тионилом или пятихлористым фосфором в хлороформном растворе и последующем действии водной уксусной кислоты, метанола или бензилового спирта на промежуточно образующийся N^{ω}-карбоксиангидрид N^{ω}-карбобензокси-L-аргинина (LXXXII; R = H) получают соответственно N^{ω}-карбобензокси-L-аргинин (LXXXIII; R = R′ = H), его метиловый эфир (LXXXIII; R = H,

R′ = CH_3) и бензиловый эфир (LXXXIII; R = H, R′ = $C_6H_5CH_2$) (методика 119).

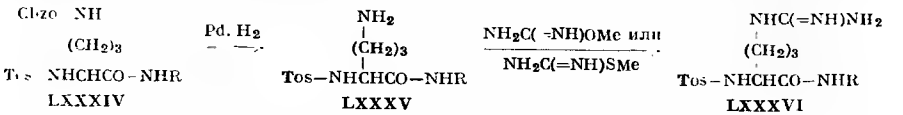


Последнее соединение было использовано в синтезе L-аргинил-L-аргинина [850, 904]. Для этой цели трикарбобензокси-L-аргинин конденсировали с бензиловым эфиром N^{ω}-карбобензокси-L-аргинина методом смешанных ангидридов [459] или дициклогексилкарбодиимидным методом [850, 904]. При этом была получена смесь продуктов реакции, из которой после многократных кристаллизаций из различных растворителей был выделен в достаточно чистом состоянии бензиловый эфир трикарбобензокси-L-аргинил-N^{ω}-карбобензокси-L-аргинина; образование побочных продуктов в этой реакции не является неожиданным, поскольку бензиловый эфир N^{ω}-карбобензокси-L-аргинина обладает по крайней мере двумя реакционноспособными группами, способными участвовать в конденсации, а именно: одной в α-положении и другой — в гуанидиновом ядре. Однако если такая конденсация проводится в присутствии одного эквивалента сильной кислоты, нужное пептидное производное образуется с удовлетворительным выходом и достаточной степени чистоты (методика 120); этот факт связан, по-видимому, с протонизацией основного гуанидинового ядра перед конденсацией. Каталитический гидрогенолиз продукта конденсации в смеси метанола с уксусной кислотой в присутствии свежеприготовленной палладиевой черни (раздел 44) приводит к L-аргинил-L-аргинину, выделяемому в виде дипикролоната (методика 163).

Типичная методика 119 [459, 904]. Бензиловый эфир N^{ω}-карбобензокси-L-аргинина. Суспензию 22 *г* сухого N^{α},N^{ω}-дикарбобензокси-L-аргинина (высушенного при 78° в течение 2 *час*) в 120 *мл* безводного хлороформа охлаждают до —10° и обрабатывают 11 *г* пятихлористого фосфора. Реакционную смесь встряхивают при охлаждении до полного перехода PCl_5 в раствор и затем оставляют на 1 *час* при комнатной температуре; при этом выпадает сиропообразный осадок. Смесь выпаривают в вакууме при температуре около 55° досуха, остаток обрабатывают небольшим количеством хлороформа и выпаривание повторяют. Для удаления хлористого бензила и хлорокиси фосфора остаток несколько раз промывают петролейным эфиром путем декантации и упаривают в вакууме для удаления следов петролейного эфира. К остатку добавляют 100 *мл* бензилового спирта, содержащего 3,5 *г* хлористого водорода, причем осадок начинает медленно растворяться с выделением двуокиси углерода. Реакционную смесь оставляют при комнатной температуре на 3 *час* и затем хлоргидрат бензилового эфира осаждают (в виде сиропа) путем добавления эфира. Осадок растворяют в небольшом количестве воды, раствор обрабатывают избытком безводного карбоната калия и выделившийся аминоэфир экстрагируют этилацетатом. Этилацетатный экстракт концентрируют в вакууме и путем добавления к нему петролейного эфира осаждают бензиловый эфир N^{ω}-карбобензокси-L-аргинина в виде призм. Перекристаллизацию продукта реакции проводят из этилацетата; т. пл. 129—130° (исправленная); выход 11,2 *г* (58%).

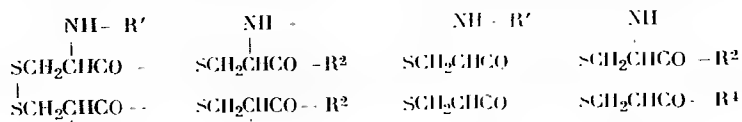
Типичная методика 120 [904]. Бензиловый эфир N^{α},N^{ω},N^{ω}-трикарбобензокси-L-аргинил-N^{ω}-карбобензокси-L-аргинина. Суспензию 8,7 *г* трикарбобензокси-L-аргинина (методика 117), 6 *г* бензилового эфира N^{ω}-карбобензокси-L-аргинина (методика 119) и 2,6 *г* *п*-толуолсульфокислоты в 30 *мл* диоксана обрабатывают при комнатной температуре 3,3 *г* N,N′-дициклогексилкарбодиимида (методика 84) и реакционную массу встряхивают в течение нескольких минут. Поскольку реакция является слабо экзотермичной, смесь поддерживают при комнатной температуре путем периодического погружения в баню со льдом. Затем реакционную смесь оставляют на ночь при комнатной температуре, нерастворимый осадок дициклогексилмочевины отфильтровывают и промывают небольшим количеством диоксана. К объединенным фильтрату и промывным водам добавляют 1 *мл* уксусной кислоты и несколько капель воды, раствор оставляют на 30 *мин* при комнатной температуре и выпавший небольшой осадок отфильтровывают. Прозрачный фильтрат концентрируют в вакууме досуха и остаток растворяют в большом объеме этилацетата. Полученный раствор дважды промывают разбавленным водным раствором триэтиламина, затем водой, дважды разбавленной уксусной кислотой и, наконец, три раза водой. После удаления капель воды путем пропускания раствора через сухую фильтровальную бумагу органический слой упаривают в вакууме, остаток обрабатывают небольшим количеством метанола и растворитель вновь упаривают в вакууме. Кристаллический продукт реакции дважды перекристаллизовывают из горячего этилацетата; выход 6,2 *г* (43%), т. пл. 162—164°.

Хотя уже давно было известно, что при действии таких реагентов, как цианамид [851, 852], гуанидин [853], O-метилизомочевина [854—856] или S-метилизотиомочевина [857], аминогруппа легко превращается в гуанидиногруппу, эта реакция очень редко использовалась в синтезе пептидов аргинина. В частности, показано, что при действии O-метилизомочевины на L-лизил-L-глутаминовую кислоту в метаноле подвергается гуанидинированию только ε-аминогруппа остатка лизина и образуется гомоаргинилглутаминовая кислота [858]. Аналогично, для превращения в тироцидине остатка L-орнитина в остаток L-аргинина [859], а также для превращения поли-DL-орнитина в поли-DL-аргинин [860] была использована S-метилизотиомочевина. Сравнительно недавно Баррасс и Элмор [429] при действии O-метилизомочевины или S-метилизотиомочевины на L- и DL-формы α-тозилорнитилглицина (LXXXV) в щелочной среде при комнатной температуре получили соответствующие формы N^{α}-тозиларгинилглицина (LXXXVI; R = CH_2CO_2H); α-тозилорнитилглицин был получен путем декарбобензоксилирования α-тозил-δ-карбобензоксиорнитилглицина (LXXXIV). Аналогичный метод был применен для синтеза N^{α}-тозил-L-гомоаргинилглицина.

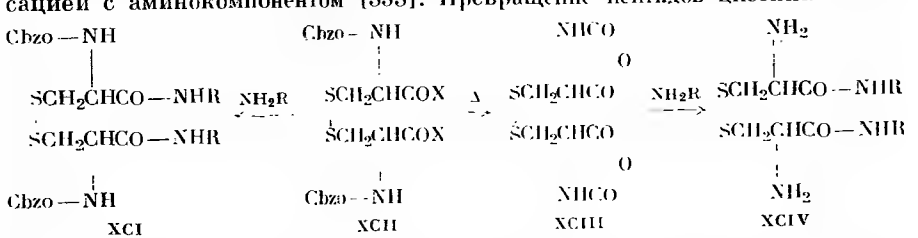


Сульфгидрильная и дисульфидная группы. Поскольку в симметричной молекуле цистина обе амино- или обе карбоксильные группы могут быть связаны с одинаковыми или различными заместителями, производные этой аминокислоты можно классифицировать на симметричные (LXXXVII и LXXXVIII), несимметричные (LXXXIX и XC) или смешанные. Симметричные пептиды цистина сейчас вполне доступны на основе ряда различных синтетических методов, но разработке препаративных методов синтоза несим-

метричных пептидов цистина до сих пор вообще не уделялось внимания. Так, в течение первого десятилетия нашего века Фишер [219, 228] и его



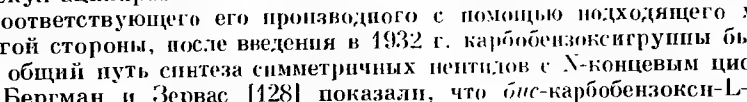
сотрудники на основе использования галогенангидридов α-галогенокислот (раздел 7) осуществили синтез пептидов, в которых каждая из аминогрупп остатка цистина симметрично соединена пептидной связью с карбоксильной группой остатка глицина, аланина или лейцина. В настоящее время такие симметричные пептиды получаются сравнительно легко путем конденсации 2 молекул ацилированной аминокислоты или пептида с 1 молекулой цистина или соответствующего его производного с помощью подходящего метода. С другой стороны, после введения в 1932 г. карбобензоксигруппы был найден и общий путь синтеза симметричных пептидов с N-концевым цистином. Так, Бергман и Зервас [128] показали, что *бис*-карбобензокси-L-цистин в виде его хлорангидрида (XCII; X = Cl) или азида (XCII; X = N_3) легко реагирует с этиловым эфиром глицина в инертном органическом растворителе и дает диэтиловый эфир *бис*-карбобензокси-L-цистинил-*бис*-глицина (XCI; R = CH_2CO_2Et). Путем аналогичной конденсации *бис*-хлорангидрида *бис*-карбобензокси-L-цистина с различными аминокислотами, их эфирами или с соответствующими пептидами, проводимой в водно-щелочной среде или в инертном органическом растворителе, было получено большое число N-концевых пептидов цистина [10, 189, 477, 861—865]. Необходимо специально отметить, что оригинальный метод Бергмана — Зервaса был использован в первой стадии классического синтеза глутатиона, осуществленного Харингтоном и Мидом [10]. Модификация этого метода заключалась в превращении *бис*-хлорангидрида *бис*-карбобензокси-L-цистина (XCII; X = Cl) в соответствующий N-карбоксиангидрид (XCIII) (раздел 10) перед конденсацией с аминокомпонентом [353]. Превращение пептидов цистина в соот-



ветствующие производные цистеина может быть достигнуто восстановительным действием иодистого фосфония в ледяной уксусной кислоте [10], цинка и кислоты [866] или натрия в жидком аммиаке [867].

Хотя при создании пептидной связи очень часто используют производные, в которых сульфгидрильная группа цистеинового остатка является незащищенной, все же целесообразно по возможности избегать такого приема, поскольку при этом вероятно частичное окисление HS-группы, затрудняющее очистку продукта реакции. В связи с этим значительные преимущества приобретает метод, предусматривающий блокирование сульфгидрильной функции перед конденсацией такой защитной группой, которая может быть

селективно удалена в конечной стадии синтеза. Для этой цели с успехом может быть использована бензильная группа, что и было установлено Дю Виньо и сотрудниками [690, 862], которые описали превращение S-бензил-L-цистеина (XCVII; R = OH) и S-бензил-L-цистеинилглицина (XCVII; R = $NHCH_2CO_2H$) в соответствующие сульфгидрильные производные (XCVI) путем редуктивного расщепления тиоэфирной связи ($S-CH_2C_6H_5$) действием металлического натрия в жидком аммиаке. Последующее окисление полученных таким образом соединений со свободной сульфгидрильной группой (XCVI) привело к образованию соответствующих дисульфидных производных (XCV). Получение необходимых производных S-бензилцистеина (XCVII) может быть легко осуществлено обработкой цистеина (XCVI; R = OH), цистина (XCV; R = OH) или соответствующих пептидов этих аминокислот натрием в жидком аммиаке с последующим добавлением к реакционной смеси хлористого бензила [862, 867]; другой метод получения S-бензилцистеина заключается во взаимодействии цистеина и бромистого бензила в водно-щелочной среде и последующем подкислении реакционной смеси до pH чуть ниже 7.

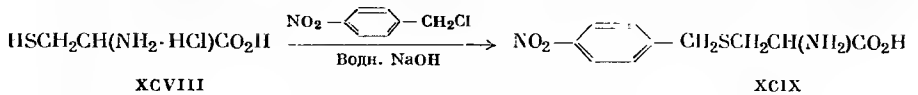


Перспективность использования S-бензилцистеина в синтетической пептидной химии (см. методики 70 и 83) показывает, что даже в тех случаях, когда имеется возможность применения соответствующих дисульфидных производных, гораздо лучше использовать S-бензилированные производные ввиду их большей стабильности и значительной склонности к образованию кристаллических соединений высокой степени чистоты. Еще одно преимущество указанного метода заключается в том, что, поскольку карбобензокси- [690] и *п*-толуолсульфонильная [842] группы могут отщепляться при восстановительном действии натрия в жидком аммиаке, снятие этих защитных групп можно проводить одновременно с S-бензильной группой в одну стадию. Этот способ был использован Дю Виньо и Миллером [11] в 1936 г. для превращения N-карбобензокси-γ-глутамил-S-бензил-L-цистеинилглицина в глутатион. Следует отметить также описанное сравнительно недавно использование S-бензилцистеина в двух других синтезах глутатиона [475, 606], а также в синтезе лизинвазопрессина [432], аргининвазопрессина [510], окситоцина [82, 868] и изоглутаминового изомера последнего [623].

Несмотря на то что при синтезе цистин- или цистеинсодержащих пептидов для защиты сульфгидрильной функции цистеинового остатка до сих пор наиболее широко, в сравнении с другими средствами защиты, использовалась S-бензильная группа, здесь заслуживают рассмотрения и некоторые другие, сравнительно недавно предложенные S-защитные группы, поскольку их применение может оказаться весьма перспективным. Ввиду того что методы введения этих новых защитных группировок в остаток цистеина, а также методы их полного удаления очень различны, каждая из этих групп будет рассмотрена в отдельности в нижеследующих параграфах.

а) *п*-Нитробензильная группа. Несмотря на близкое родство структуры *п*-нитробензильной и бензильной групп, первая из них, соединенная тиоэфирной связью с сульфгидрильной функцией, легко отщепляется путем каталитического гидрогенолиза, в то время как для аналогичного отщепления второй группы необходимо восстановительное действие натрия в жидком аммиаке [512]. Получение S-*п*-нитробензил-L-цистеина (XCIX) обычно проводят путем обработки хлоргидрата L-цистеина (XCVIII) *п*-нитробензил-

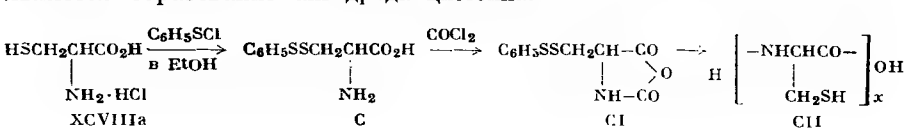
хлоридом в водной щелочи с последующим подкислением реакционной смеси



до pH 6 (методика 121); этерификация XCIX этанольным раствором хлористого водорода (методика 48) приводит к кристаллическому хлоргидрату соответствующего этилового эфира (т. пл. 172—173°, $[\alpha]_D^{25} = +27{,}3°$ для 1%-ного раствора в этаноле). До настоящего времени не описано использования S-*n*-нитробензил-L-цистеина в синтезе пептидов.

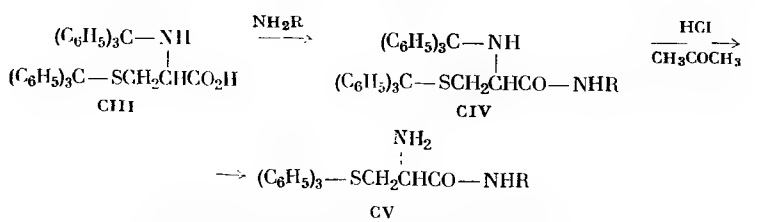
Типичная методика 121 [512]. S-*n*-Нитробензил-L-цистеин (гидрат). К раствору 3,14 *г* хлоргидрата L-цистеина в 60 *мл* 1 н. раствора едкого натра при интенсивном перемешивании и охлаждении до 0° добавляют пятью приблизительно равными порциями в течение 30 *мин* раствор 1,71 *г* *n*-нитробензилхлорида в 30 *мл* диоксана. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре еще 30 *мин*, затем дважды промывают эфиром и подкисляют концентрированной соляной кислотой (по лакмусу). Водный раствор упаривают в вакууме для удаления следов органического растворителя и оставляют на несколько часов; при этом выпадает кристаллический осадок продукта реакции. После перекристаллизации из горячей воды выход составляет около 60%; т. пл. 233—234°.

б) S-Тиофенильная группа. В 1956 г. Сакакибара и Тани [647, 869] путем действия бензолсульфенилхлорида на суспензию хлоргидрата L-цистеина (XCVIIIa) и бикарбоната натрия в этаноле синтезировали S-тиофенил-L-цистеин (C) (методика 122). Благодаря тому, что это соединение содержит дисульфидную связь, оно может быть легко превращено в L-цистеин или одним из редуктивных методов, например оловом и соляной кислотой, или путем сдвига равновесия между сульфгидрильной и дисульфидной формами добавлением избытка меркаптана, например этилового эфира тиогликолевой кислоты. Однако вследствие несимметричной природы его дисульфидной связи S-тиофенилцистеин весьма неустойчив при действии минеральных кислот и щелочей и поэтому может найти лишь ограниченное применение в ступенчатом синтезе пептидов, содержащих остатки цистеина или цистина. Так, при обработке холодным 1 н. водным раствором едкого натра или кипящей соляной кислотой S-тиофенилцистеин претерпевает постепенное разложение с одновременным образованием L-цистина и дифенилсульфида. Аналогичное разложение происходит и при действии раствора сухого хлористого водорода в ледяной уксусной кислоте. Несмотря на эти очевидные недостатки, S-тиофенил-L-цистеин (C) оказался весьма ценным объектом при изучении реакций полимеризации. Так, путем его превращения в соответствующий N-карбоксиангидрид (CI) при действии фосгена в диоксановом растворе (раздел 10) и последующих полимеризации и восстановления (CI) при нагревании в растворе этилового эфира тиогликолевой кислоты был с успехом получен полимер L-цистеина (CII); побочным процессом в этой реакции является образование ангидрида цистеина.



Типичная методика 122 [647, 869]. S-Тиофенил-L-цистеин. Для получения бензолсульфенилхлорида в 150 *мл* четыреххлористого углерода при интенсивном перемешивании и охлаждении смесью соли со льдом медленно пропускают ток сухого хлора и одновременно к реакционной смеси добавляют раствор 5 *г* тиофенола в 50 *мл* четыреххлористого углерода [870]. Растворитель и избыток хлора упаривают в вакууме при температуре не выше 40° и оставшийся сироп растворяют в 30 *мл* сухого эфира. Поскольку продукт реакции является крайне неустойчивым к действию воды, все вышеуказанные операции следует проводить при полном отсутствии влаги. Эфирный раствор бензолсульфенилхлорида при интенсивном перемешивании и охлаждении добавляют затем к предварительно охлажденной суспензии 6,2 *г* хлоргидрата L-цистеина и 3,8 *г* порошкообразного бикарбоната натрия в 120 *мл* абсолютного этанола. После окончания добавления реакционную смесь оставляют на несколько часов при комнатной температуре и выпавший осадок хлористого натрия отфильтровывают. При обработке фильтрата 5 *мл* пиридина осаждается продукт реакции, который отделяют центрифугированием, тщательно промывают спиртом и высушивают. Перекристаллизацию проводят из 0,5 н. соляной кислоты; выход 8,1 *г* (88%), т. пл. 192° (с разложением), $[\alpha]_D^{18}$ —78,3° (0,4%, в 1 н. соляной кислоте).

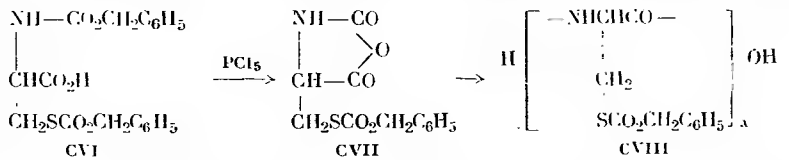
в) Тритильная группа. Образование пептидной связи между S,N-дитритил-L-цистеином (CIII) и эфиром аминокислоты или пептида может оказаться возможным при конденсирующем действии дициклогексилкарбодиимида (раздел 36). Селективное удаление N-тритильной группы с остатка S,N-дитритил-L-цистеина (CIV → CV) происходит при действии раствора соляной кислоты в 80%-ном ацетоне (кипячение в течение 10 *мин*), и появляющаяся при этом свободная аминогруппа цистеинового остатка может быть введена в конденсацию с карбоксильной группой другого аминокислотного остатка. Такая последовательность операций была использована в синтезах глутатиона [549] и окситоцина [673]. Синтез S,N-дитритил-L-цистеина (CIII) описан в 1956 г. Амьяром, Хеймсом и Веллюзом [549], которые выделили это соединение в виде диэтиламиновой соли после обработки водного раствора хлоргидрата L-цистеина эфирным раствором тритилхлорида в присутствии диэтиламина (методика 123); детритилирование CIII до S-тритил-L-цистеина может быть осуществлено действием горячей 50%-ной уксусной кислоты.



Типичная методика 123 [549]. S,N-Дитритил-L-цистеин. К раствору 25 *г* хлоргидрата L-цистеина в 480 *мл* воды при интенсивном перемешивании и охлаждении до 0° добавляют раствор 80 *мл* диэтиламина в 480 *мл* эфира. Затем раствор охлаждают до —5°, к нему добавляют 120 *г* тритилхлорида и смесь перемешивают в течение 3 *час*. Все указанные операции проводятся в атмосфере азота. Реакционную смесь экстрагируют хлороформом, хлороформный экстракт промывают водой, высушивают безводным сульфатом натрия и выпаривают в вакууме досуха. Остаток растворяют в этаноле.

к раствору добавляют 1 *мл* диэтиламина и диэтиламиновую соль S,N-дитритил-L-цистеина осаждают эфиром; выход 76 *г* (70%), $[\alpha]_D^{20}$ + 71° (2%, в хлороформе).

г) Карбобензоксигруппа. Безуспешные попытки Бергера, Ногучи и Качальского в 1956 г. [365] провести дебензилирование поли-S-бензил-L-цистеина до поли-L-цистеина путем редуктивного действия натрия в жидком аммиаке или иодистого фосфония в ледяной уксусной кислоте послужили причиной для поиска более подходящей защитной группы для сульфгидрильной функции. В результате этого поиска было найдено, что S-карбобензоксигруппа поли-S-карбобензокси-L-цистеина (CVIII) способна легко отщепляться натрием в жидком аммиаке. Получение исходного полимера (CVIII) было осуществлено полимеризацией в растворе сухого бензола N-карбоксиангидрида S-карбобензокси-L-цистеина (CVII), который в свою очередь



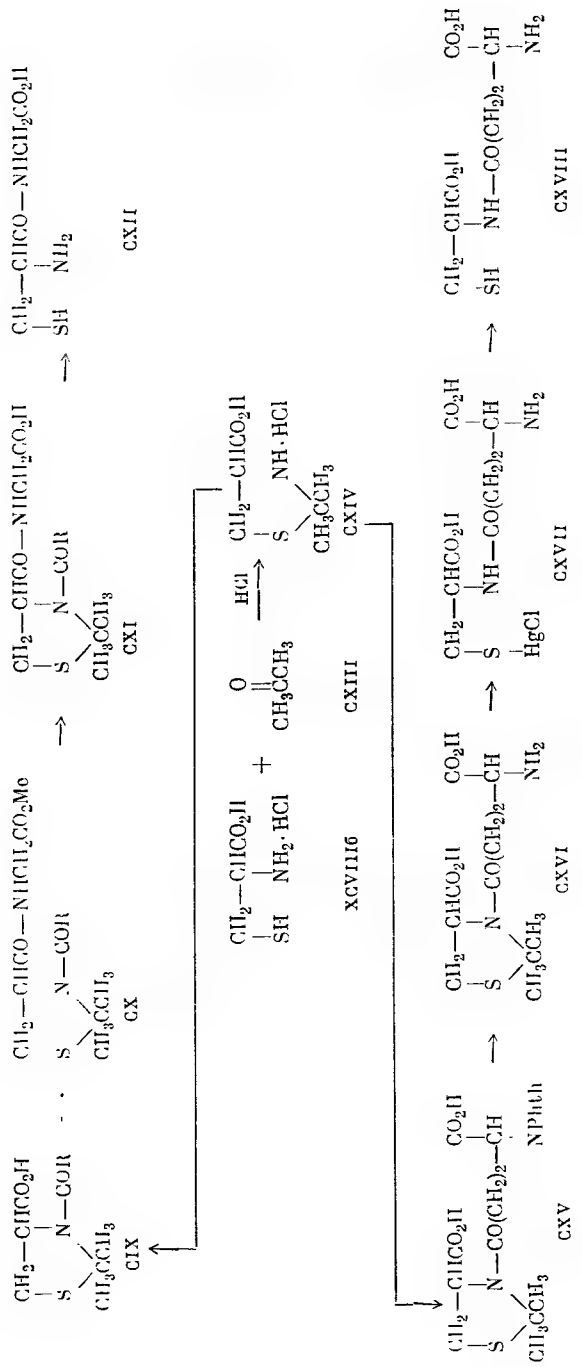
образуется при действии пятихлористого фосфора на N,S-дикарбобензокси-L-цистеин в бензольном растворе или при фосгенировании S-карбобензокси-L-цистеина в сухом диоксане. N,S-Дикарбобензокси-L-цистеин (CVI) был получен при реакции 2 молей карбобензоксихлорида с 1 молем L-цистеина в холодном водно-щелочном растворе при pH 9—10 (методика 124), в то время как S-карбобензокси-L-цистеин образуется при взаимодействии 1 моля L-цистеина с 1 молем карбобензоксихлорида в водном растворе бикарбоната натрия (методика 125). Ни N,S-ди-, ни S-монокарбобензоксицистеины до сих пор не использовались в ступенчатом синтезе пептидов.

Типичная методика 124 [365]. N,S-Дикарбобензокси-L-цистеин. К раствору 12 *г* хлоргидрата L-цистеина в 115 *мл* 2 н. раствора едкого натра при интенсивном перемешивании и охлаждении в бане со льдом добавляют одновременно в течение 30 *мин* 27 *мл* карбобензоксихлорида (методика 27) и 43 *мл* 2 н. раствора едкого натра. Скорость введения щелочи регулируют таким образом, чтобы pH реакционной смеси поддерживался в интервале от 9 до 10. Натриевую соль дикарбобензоксицистеина, осаждающуюся в виде тяжелого масла, отделяют декантацией, промывают эфиром и затем подкисляют при охлаждении разбавленной соляной кислотой. Продукт реакции экстрагируют 200 *мл* этилацетата, органический слой промывают водой, высушивают безводным сульфатом натрия и упаривают в вакууме. Остаток затвердевает при растирании с петролейным эфиром и перекристаллизовывается из 100 *мл* четыреххлористого углерода; выход 21 *г* (71%), т. пл. 97—98°, $[\alpha]_D^{20}$ —32,4° (8,5%, в ледяной уксусной кислоте).

Типичная методика 125 [365]. S-Карбобензокси-L-цистеин. К охлажденному льдом раствору 8,8 *г* хлоргидрата L-цистеина в 100 *мл* 1 н. водного раствора бикарбоната натрия добавляют 50 *мл* эфира и затем при энергичном перемешивании прибавляют сразу 8,6 *г* карбобензоксихлорида (методика 27). Смесь выдерживают 1 *час* при 0°, затем еще 1 *час* при 10°; кристаллическую массу отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают водой, отсасывают насколько возможно, промывают ацетоном и эфиром и, наконец, высушивают в вакууме. Выход 9,5 *г* (67%); т. пл. 177°, не изменяющаяся после перекристаллизации продукта реакции из водной уксусной кислоты (1 : 1); $[\alpha]_D^{20}$ —50° (1%, в ледяной уксусной кислоте).

д) Тиазолидиновые производные. В 1952 г. в кратком сообщении Шихана и Армстронга [871] и в 1957 г. в более обширном сообщении Кинга, Кларка-Льюиса и Вейда [872] было отмечено, что превращение цистеина и соответствующее производное 4-карбокси-2,2-диметилтиазолидина может служить одним из методов защиты сульфгидрильной функции, при котором α-амино- или α-карбоксильная группа остается свободной для конденсации с другим аминокислотным остатком. Хлоргидрат ключевого промежуточного тиазолидинового производного (CXIV) может быть получен легко и с высоким выходом путем катализируемого хлористым водородом взаимодействия хлоргидрата L-цистеина (XCVIIIб) с ацетоном [872—874] (методика 126). При использовании промежуточного соединения CXIV для синтеза пептидов, в которых карбоксильная группа остатка цистеина соединена пептидной связью с аминогруппой другого аминокислотного остатка, предполагается, что вторичная аминогруппа тиазолидинового цикла соответствующим образом защищена перед конденсацией. Так, путем обработки раствора CXIV и безводного формиата натрия в муравьиной кислоте уксусным ангидридом может быть получен 3-формил-4-карбокси-2,2-диметилтиазолидин (CIX; R = H) [872, 874] (методика 127). Соответствующее 3-карбобензоксипроизводное (CIX; R = $C_6H_5CH_2O$) также образуется при взаимодействии CXIV с карбобензоксихлоридом в растворе сухого пиридина [875] (методика 128). Конденсация соответствующего 3-ацилированного тиазолидинового производного CIX с подходящим амином может быть с успехом без заметной рацемизации осуществлена методом смешанных ангидридов (раздел 29) и карбодиимидным методом (раздел 36) [872, 874]. Так, например, использование этилового эфира хлоругольной кислоты и триэтиламина в растворе хлористого метилена для активирования карбоксильной группы 3-формильного производного (CIX; R = H) и последующая обработка полученного таким образом смешанного ангидрида метиловым эфиром глицина приводят, в конце концов, к выделению оптически активного метилового эфира L-N-(3-формил-2,2-диметилтиазолидин-4-карбокси)-глицина (CX; R = H) с выходом около 89% (методика 129); с другой стороны, использование в качестве конденсирующего агента треххлористого фосфора (раздел 33) приводит к полностью рацемическому продукту реакции [533]. Нужный пептид цистеина (CXII) легко получается при омылении сложноэфирной группы соединения CX и последующем одновременном удалении формильной группы и раскрытии тиазолидинового цикла у кислоты CXI путем мягкого кислотного гидролиза.

Для синтеза пептидов, в которых в образовании пептидной связи участвует аминогруппа цистеинового остатка, необходимо вторичную аминогруппу 4-карбокси-2, 2-диметилтиазолидина (CXIV) ввести в конденсацию с соответствующим образом активированными ациламинокислотой или ацилпептидом. Примером этому является легкое образование L-4-карбокси-2,2-диметил-3-(фталил-γ-L-глутамил)-тиазолидина (CXV) при взаимодействии ангидрида фталил-L-глутаминовой кислоты с CXIV в ледяной уксусной кислоте в отсутствие оснований [874]. Дефталилирование CXV действием гидразина приводит к соответствующему 3-аминоацил-4-карбокси-2,2-диметилтиазолидину (CXVI), который в свою очередь претерпевает расщепление при обработке солями тяжелых металлов, такими, как хлористая ртуть, с образованием меркурмеркаптида соответствующего аминоацилцистеина (CXVII). Разложение последнего сероводородом приводит к выделению



нужного С-концевого цистеинового производного (CXVIII). Аналогичная последовательность реакций использована и для превращения L-4-N-метоксикарбонилметилкарбамоил-2,2-диметил-3-(фталил-γ-L-глутамил)-тиазолидина (CX; R = $CH_2CH_2CH(NPhth)CO_2H$) в глутатион [872].

Типичная методика 126 [872]. Хлоргидрат L-4-карбокси-2,2-диметилтиазолидина. Суспензию 5 *г* порошкообразного хлоргидрата L-цистеина в 350 *мл* ацетона кипятят 30 *мин*, причем происходит растворение аминокислоты и из горячего ацетонового раствора постепенно выпадают крупные пластинки хлоргидрата тиазолидина. Охлажденную суспензию фильтруют и получают 6 *г* (95%) продукта реакции с т. пл. 164—165°; после перекристаллизации вещества из ацетона его температура плавления повышается до 168—170° (с разложением). При больших масштабах опыта (20 *г* хлоргидрата L-цистеина) выход тиазолидина составляет около 80% [872, 874].

Типичная методика 127 [872]. L-4-Карбокси-3-формил-2,2-диметилтиазолидин. К суспензии 37,4 *г* хлоргидрата L-4-карбокси-2,2-диметилтиазолидина (методика 126) и 13 *г* безводного формиата натрия в 175 *мл* 90%-ной муравьиной кислоты при перемешивании и охлаждении (для поддержания температуры ниже 20°) добавляют по каплям в течение часа 84 *мл* уксусного ангидрида. Реакционную смесь оставляют на ночь, продукт реакции отфильтровывают, фильтрат упаривают в вакууме, разбавляют водой и выпавшие кристаллы также отфильтровывают; общий выход 32,5 *г* (90%). Перекристаллизацию можно провести из воды; т. пл. 225° (с разложением), $[\alpha]_D^{21}$ —181° (2,4%, в 0,333 н. растворе карбоната натрия).

Типичная методика 128 [875]. L-4-Карбокси-3-карбобензокси-2,2-диметилтиазолидин. Раствор 500 *мг* хлоргидрата L-4-карбокси-2,2-диметилтиазолидина (методика 126) в 60 *мл* сухого пиридина охлаждают в бане со льдом и при интенсивном перемешивании к нему добавляют по каплям 1,8 *мл* карбобензоксихлорида (методика 27). После окончания добавления перемешивание продолжают еще 15 *мин* и реакционную массу концентрируют в вакууме до сиропообразного состояния. Остаток растворяют в хлороформе, раствор промывают водой, высушивают и концентрируют в вакууме; маслообразный остаток промывают гексаном и растворитель вновь упаривают в вакууме. Оставшееся вещество растворяют в 10 *мл* эфира и эфирный раствор обрабатывают 1,5 эквивалентами бензиламина; при этом осаждается нужный продукт реакции в виде бензиламиновой соли. Соль перекристаллизовывают из 20 *мл* бензола (путем разбавления 100 *мл* гексана); выход 275 *мг*, т. пл. 124—128°.

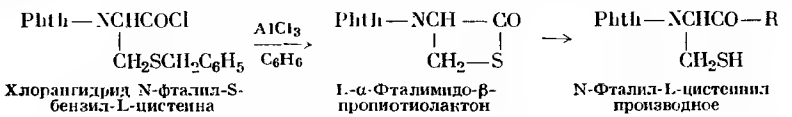
Типичная методика 129 [874]. Метиловый эфир L-N-(3-формил-2,2-диметилтиазолидин-4-карбокси-)-глицина. Раствор 0,945 *г* L-4-карбокси-3-формил-2,2-диметилтиазолидина (методика 127) и 0,7 *мл* триэтиламина в 10 *мл* очищенного хлористого метилена обрабатывают при —8° 0,54 *г* свежеперегнанного этилового эфира хлоругольной кислоты. Смесь перемешивают при этой же температуре 18 *мин*; при этом выпадает большой осадок хлоргидрата триэтиламина. Затем к реакционной смеси добавляют предварительно охлажденный раствор 0,627 *г* хлоргидрата метилового эфира глицина и 0,7 *мл* триэтиламина в 40 *мл* хлористого метилена; смесь перемешивают 20 *мин* при —5°, затем 2 *час* при комнатной температуре, разбавляют 100 *мл* хлористого метилена и тщательно промывают 5%-ной соляной кислотой, 5%-ным раствором бикарбоната натрия (порциями по 10 *мл*) и водой. Слой хлористого метилена высушивают и упаривают в вакууме до масло-

образного остатка, который легко затвердевает при растирании. Перекристаллизация из смеси четыреххлористого углерода с петролейным эфиром дает 1,16 *г* (89%) бесцветных призм; т. пл. 108—109,5°; $[\alpha]_D^{28}$ —155° (3,5%, в метаноле).

е) N-Ацил-α-амино-β-пропиотиолактоны. В работе Флена, Марковак-Принча и Томашека (875а) было установлено, что в то время как взаимодействие эквимолекулярных количеств хлористого алюминия и хлорангидрида N-фталил-S-бензил-L-цистеина в теплом бензоле приводит к политиоэфиру

$$[-SCH_2CH(NPhth)CO-]_x \cdot H_2O,$$

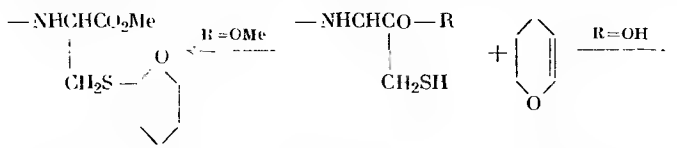
в случае применения двух или более молей хлористого алюминия последовательно происходят дебензилирование и внутримолекулярная циклизация хлорангидрида с образованием L-α-фталимидо-β-пропиотиолактона (т. пл. 141—143°, $[\alpha]_D^{20}$ —162° в бензоле и —106° в диоксане); аналогичным образом может быть получена и DL-форма этого соединения (т. пл. 138—139°). Возможность использования L-α-фталимидо-β-пропиотиолактона для синтеза цистеиновых пептидов показана тем, что при его взаимодействии с аминами или с раствором хлористого водорода в этаноле были получены соответствующие амиды или этиловый эфир ($[\alpha]_D$ —56° в бензоле) N-фталил-L-цистеина; так. обработка тиолактона этиловым эфиром L-метионина в диоксановом растворе при комнатной температуре приводит к выделению этилового эфира N-фталил-L-цистеинил-L-метионина с выходом около 32%. Последовательность реакций при этом можно представить следующим образом:



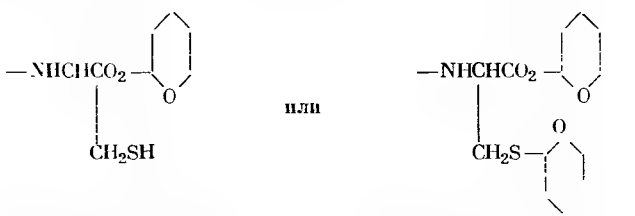
Хлорангидрид N-фталил-S-бензил-L-цистеина — L-α-Фталимидо-β-пропиотиолактон — N-Фталил-L-цистеинил производное

где $R = NHCH(CH_2CH_2SCH_3)CO_2C_2H_5$ или OC_2H_5

ж) S-Тетрагидропиранильная группа. В недавнем исследовании Холланда и Коэна (875в) было показано, что аддукты, образующиеся из меркаптанов и дигидропирана (875б), могут служить еще одним средством защиты сульфгидрильной группы остатков цистеина при синтезе пептидов. Получение соответствующего S-тетрагидропиранильного производного может быть



S-Тетрагидропиранильное производное — Производное цистеина — Дигидропиран



O-Тетрагидропираниловый сложный эфир — O,S-Дитетрагидропиранильное производное

осуществлено путем взаимодействия дигидропирана с эфиром или с N-ацильным производным цистеина в растворе хлористого метилена, содержащем хлористый водород в качестве катализатора (см. схему). Если карбоксильная функция цистеинового остатка защищена сложноэфирной группой, то при реакции образуется непосредственно S-тетрагидропиранильное производное. Однако если карбоксильная группа остается свободной, то она вначале этерифицируется дигидропираном, а соответствующее S-тетрагидропиранильное производное образуется только в присутствии избытка дигидропирана. В противоположность S-бензильной группе, легко отщепляющейся при действии натрия в жидком аммиаке, S-тетрагидропиранильная группа при действии этого реагента расщепляется со значительно меньшей скоростью. С другой стороны, S-тетрагидропиранильная защитная группа может быть легко удалена путем гидролиза разбавленной кислотой (875б) или, лучше, путем разложения водным нитратом серебра (875в); продуктами расщепления в последнем случае являются меркаптид серебра (производное цистеина) и δ-оксивалериановый альдегид. Использование указанной своеобразной защитной группы в синтезе пептидов цистеина является достаточно ограниченным, и поэтому в настоящее время трудно обсуждать этот вопрос более подробно.

з) S-Бензилтиометильная группа. Использование бензилтиометильной группы для защиты сульфгидрильной функции остатков цистеина при пептидном синтезе было рекомендовано Пимлоттом и Янгом (875г). Получение S-бензилтиометил-L-цистеина (т. пл. 193°, $[\alpha]_D^{19}$ —39,8° в 2,4 н. HCl)

$$(C_6H_5CH_2SCH_2-SCH_2CH(NH_2)CO_2H$$

может быть легко осуществлено а) восстановлением L-цистина при действии натрия в жидком аммиаке и последующей обработкой раствора бензилтиометилхлоридом ($C_6H_5CH_2SCH_2Cl$) или б) кипячением смеси хлоргидрата L-цистеина и бензилтиометилхлорида в сухом метаноле и последующим омылением продукта реакции. Обработка S-бензилтиометил-L-цистеина хлористым тионилом в метаноле приводит к хлоргидрату метилового эфира соответствующей аминокислоты (т. пл. 145—146°)

$$(C_6H_5CH_2SCH_2-SCH_2CH(NH_2 \cdot HCl)CO_2CH_3,$$

в то время как при действии на S-бензилтиометил-L-цистеин карбобензоксихлорида и водной щелочи образуется соответствующая N-карбобензоксиаминокислота

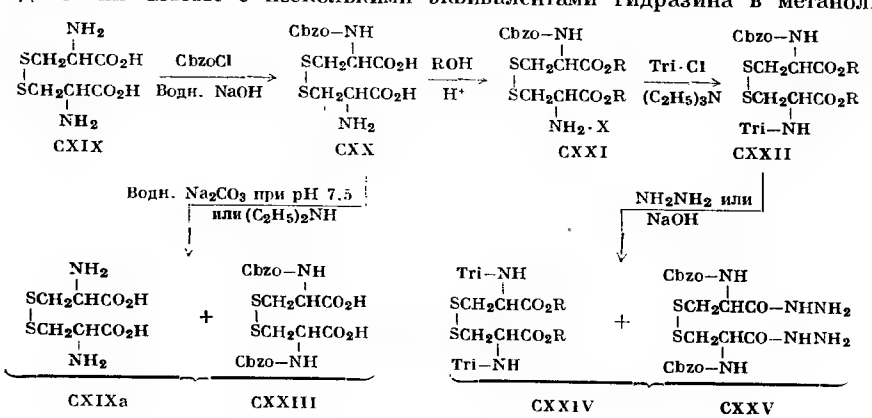
$$(C_6H_5CH_2SCH_2-SCH_2CH(NH-Cbzo)CO_2H),$$

которая может быть выделена в виде кристаллической дициклогексиламиновой соли (т. пл. 118,5—119°, $[\alpha]_D^{19}$ +6,5° в этаноле). Хотя отщепление S-бензилтиометильной группы может быть легко достигнуто путем нагревания соответствующего производного с хлористой ртутью и кислотой в водном растворе, тем не менее эта группировка довольно устойчива к действию водной щелочи, бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте и теплой 2 н. соляной кислоты. Правда, до настоящего времени не было описано случаев удаления этой защитной группы с пептидов цистеина.

Предыдущее обсуждение касалось главным образом методов синтеза пептидов, которые включают или остаток цистеина, или симметрично замещенный остаток цистина, как это показано в формулах LXXXVII и LXXXVIII. Напротив, до настоящего времени значительно меньшее внимание уделялось разработке методов синтеза несимметричных линейных пептидов цистина типа LXXXIX и XC. Так, попытка Фишера и Гернгрос-

са [219] в 1909 г. получить моноглицил- и монолейцил-L-цистин путем аминолиза соответствующих моно-α-галогенацильных производных L-цистина привела в каждом случае к выделению веществ, которым было приписано строение вышеуказанных пептидов. Однако этот вывод казался сомнительным, поскольку вещества были получены в аморфном состоянии и данные их элементарного анализа существенно отличались от вычисленных значений; во всяком случае, несомненно, что каждое из полученных веществ содержало значительные количества примесей. Тот факт, что указанная реакция протекает не однозначно, был доказан выделением из реакционной смеси свободного цистина, образовавшегося, по всей вероятности, в результате гидролиза исходной α-галогенациламинокислоты. За пятьдесят лет, прошедших после опубликования этой первой работы Фишера, не появилось ни одного сообщения об успешном синтезе несимметричных линейных пептидов цистина.

Лишь сравнительно недавно Зервас, Бенаутон и Вейсс [876] в лаборатории автора предприняли исследования путей синтеза несимметричных пептидов цистина и попытались объяснить неудовлетворительные результаты, полученные Фишером и Гернгроссом [219], а также выяснить трудности, встречающиеся при такого рода синтезах. В качестве основного объекта исследования был выбран монокарбобензокси-L-цистин (CXX), образующийся при действии карбобензоксихлорида на взятый в большом избытке L-цистин (CXIX) в условиях реакции Шоттена — Баумана; выделение моноацильного производного предусматривало доведение pH реакционной смеси до 6, удаление избытка нерастворимого L-цистина путем фильтрования, подкисления фильтрата до pH 3,2 и отделение выпавшего монокарбобензокси-L-цистина (методика 130). Этерификация последнего (CXX) путем обработки метанольным раствором хлористого водорода или бензиловым спиртом в присутствии *п*-толуолсульфокислоты привела соответственно к хлоргидрату *бис*-метилового эфира (CXXI; R = CH_3, X = HCl) и *п*-толуолсульфонату *бис*-бензилового эфира (CXXI; R = $CH_2C_6H_5$, X = = *п*-$CH_3C_6H_4SO_3H$). При обработке CXXI тритилхлоридом и триэтиламином в хлороформном растворе был получен соответствующий *бис*-эфир N-тритил-N′-карбобензокси-L-цистина (CXXII). Попытка получить соответствующий α-моногидразид (исходя из предположения, что объемистая тритильная группа вследствие стерического экранирования будет подавлять реакционную способность соседней сложноэфирной группировки) при взаимодействии CXXII с несколькими эквивалентами гидразина в метаноль-



ном растворе неожиданно привела к осаждению *бис*-метилового эфира *бис*-тритил-L-цистина CXXIV с почти количественным выходом; при концентрировании маточного раствора был выделен *бис*-гидразид *бис*-карбобензокси-L-цистина (CXXV). Очевидно, что при действии гидразина происходит дисульфидная перегруппировка между двумя молекулами CXXII с образованием симметричных производных CXXIV и CXXV. Эта реакция катализируется основаниями, что следует из того факта, что *бис*-тритильное производное CXXIV образуется также при добавлении очень небольшого количества гидразина или щелочи к метанольному раствору CXXII. Аналогичная перегруппировка имеет место и в случае монокарбобензокси-L-цистина (CXX), который при обработке диэтиламином в водном растворе в течение 2 *час* примерно на 40% превращается в смесь свободного цистина CXIXa и дикарбобензоксицистина (CXXIII). В более мягких условиях, а именно в водном растворе карбоната натрия при pH 7,5 аналогичное диспропорционирование CXX за 3 *суток* проходит лишь на 25%; напротив, при pH 6,5 даже через 5 *суток* не наблюдалось заметной перегруппировки (методика 130).

Типичная методика 130 [299, 876]. Получение и диспропорционирование монокарбобензокси-L-цистина. К раствору 100 *г* (0,42 моля) L-цистина в 1 *л* 1,65 н. раствора едкого натра в течение часа добавляют при охлаждении (баня со льдом) и интенсивном перемешивании 25 *мл* карбобензоксихлорида (методика 27). Через 20 *мин* реакционную смесь подкисляют 6 н. соляной кислотой до pH 6 и затем перемешивают при охлаждении еще в течение 20 *мин*. Избыток L-цистина отфильтровывают на воронке Бюхнера и осадок промывают 100 *мл* воды. Объединенные фильтрат и промывные воды подкисляют 6 н. соляной кислотой точно до pH 3,2, смесь оставляют при 4° на несколько часов, фильтруют и осадок тщательно промывают спиртом и эфиром. Продукт реакции встряхивают со 100 *мл* 1 н. соляной кислоты в течение часа для удаления примесей свободного цистина, нерастворимый осадок отфильтровывают, затем растворяют в рассчитанном количестве водного диэтиламина (15 *г* на 300 *мл*) и к раствору немедленно добавляют избыток уксусной кислоты. Через несколько минут начинается кристаллизация монокарбобензоксицистина; смесь выдерживают на холоду в течение нескольких часов, кристаллы отфильтровывают, промывают этанолом, затем эфиром и высушивают в вакууме. Выход 15—30 *г*, $[\alpha]_D^{23}$ —120° (1%, в 1 н. растворе NaOH).

Следующие эксперименты иллюстрируют склонность монокарбобензокси-L-цистина к диспропорционированию в щелочной среде.

а) Смесь 3,7 *г* монокарбобензокси-L-цистина, 4 *мл* воды, 4,5 *мл* диэтиламина и 8 *мл* изопропилового спирта встряхивают при комнатной температуре в течение 2 *час* и затем добавляют к ней 20 *мл* 1 н. раствора едкого натра. Через 15 *мин* реакционную смесь подкисляют до pH 2 соляной кислотой, полученную суспензию экстрагируют этилацетатом, затем фильтруют и выделяют 1,6 *г* исходной монокарбобензоксиаминокислоты. Водный фильтрат подщелачивают до pH 6 путем добавления едкого натра, охлаждают и фильтруют; после очистки продукта реакции путем осаждения щелочью из кислого раствора получают 200 *мг* L-цистина. Этилацетатный экстракт высушивают безводным сульфатом натрия, концентрируют в вакууме, остаток кристаллизуют вначале из смеси хлороформа с петролейным эфиром, а затем из хлороформа и выделяют 1 *г* *бис*-карбобензокси-L-цистина с т. пл. 121°. Эти результаты приводят к выводу, что минимум 40% монокарбобензоксицистина в приведенных условиях претерпевают диспропорционирование.

б) Раствор 3,7 *г* монокарбобензокси-L-цистина в воде обрабатывают карбонатом натрия (до pH 7.5) и оставляют на 3 *суток* при комнатной температуре. В результате, аналогично опыту «а», выделяют 600 *мг бис*-карбобензокси-L-цистина, что соответствует диспропорционированию дисульфида приблизительно на 24%. Напротив, при выдерживании раствора монокарбобензокси-L-цистина при pH 6,5 в течение 5 *недель* при комнатной температуре не наблюдается образования заметных количеств продукта перегруппировки.

Тот факт, что диспропорционирование дисульфидов типа цистина и его производных может происходить в нейтральных, основных и сильнокислых растворах, был впервые установлен Райлом и Сенджером [877], которые наблюдали образование моно-(динитрофенил)-цистина (с помощью фотометрического метода) при взаимодействии цистина и *бис*-(динитрофенил)-цистина. Те же исследователи показали, что при реакции между *бис*-(динитрофенил)-цистином и цистинил-*бис*-глицином образуется моно-(динитрофенил)-цистинилглицин. Установлено также, что скорость и степень диспропорционирования в щелочном растворе возрастают с ростом pH среды. Отмеченные ранее исследования, проведенные в лаборатории автора [876], не только согласуются с работами Райла и Сенджера [877] по катализируемому щелочами диспропорционированию динитрофенильных производных цистина, но и позволяют также понять причину образования значительных количеств цистина в опытах Фишера и Гернгросса по аминолизу моно-α-галогенацилцистина. Во всяком случае, все эти эксперименты показывают, что успешный синтез несимметричных пептидов цистина возможен лишь при проведении реакций в таких условиях, которые не вызывают перегруппировки при дисульфидной связи. В связи с этим надо отметить, что условия, аналогичные условиям синтеза монокарбобензокси-L-цистина (методика 130), являются вполне подходящими для получения монокарбобензоксиглицил-L-цистина (методика 131). Так, обработка L-цистина, взятого в избытке, хлорангидридом карбобензоксиглицина в водном диоксане (в щелочной среде) приводит к выделению чистого моно-(карбобензоксиглицил)-L-цистина [876]. При декарбобензоксилировании последнего действием безводного бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте (раздел 46; методика 167) образуется моноглицил-L-цистин наряду с небольшим количеством свободного цистина, легко удаляемого путем фракционной кристаллизации. Хотя этот метод первоначально позволил получить в чистом виде ряд кристаллических несимметричных линейных пептидов цистина, его использование для синтеза самых разнообразных и более сложных по структуре цистиновых пептидов достаточно ограничено. Естественно, что необходима разработка других, более общих методов, однако это представляет собой трудную задачу вследствие постоянной возможности диспропорционирования дисульфидных производных, протекающего в условиях, обычно используемых в синтезе пептидов.

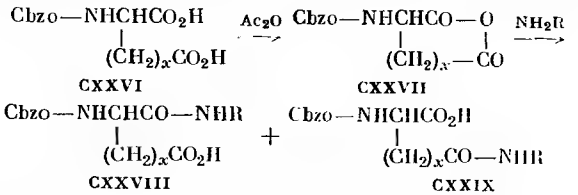
Типичная методика 131 [876]. Моно-(карбобензоксиглицил)-L-цистин. Для получения хлорангидрида карбобензоксиглицина смесь 10,5 *г* карбобензоксиглицина (методика 28) и 11,2 *г* пятихлористого фосфора в 60 *мл* абсолютного эфира встряхивают при охлаждении льдом до полного растворения осадка (примерно 20—30 *мин*), фильтруют, фильтрат выпаривают досуха в вакууме при температуре не выше 10° и остаток дважды промывают сухим петролейным эфиром; при хранении под слоем петролейного эфира при —10° осадок кристаллизуется. Выделяют 8,8 *г* нужного хлорангидрида, который перекристаллизовывают из смеси эфира с петролейным эфиром;

т. пл. 43°. Полученный хлорангидрид при интенсивном перемешивании добавляют четырьмя равными порциями к охлажденному до 0° раствору 36 *г* (0,15 моля) L-цистина в 95 *мл* 4 н. раствора едкого натра и 95 *мл* диоксана. Через 10 *мин* после начала добавления хлорангидрида pH раствора доводят до 6 путем добавления соляной кислоты и затем диоксан отгоняют в вакууме. К остатку добавляют 50 *мл* воды, цистин отфильтровывают и фильтрат подкисляют концентрированной соляной кислотой до pH 1,8. Водный раствор дважды промывают этилацетатом и к нему осторожно добавляют раствор гидроокиси лития до pH 3,2; смесь (общий объем около 150 *мл*) оставляют на ночь при 0°, выпавший осадок (5,5 *г*) отфильтровывают на воронке Бюхнера и промывают вначале холодной водой, а затем этанолом. При концентрировании фильтрата с последующим добавлением к нему этанола выделяют еще 1 *г* вещества. После перекристаллизации из водного этанола т. пл. 178—180° (с разложением), $[\alpha]_D^{25}$ —136° (2%, в воде, содержащей 2 эквивалента соляной кислоты).

ω-*Карбоксильные группы*. Хотя в данном разделе обсуждаются главным образом реакции конденсации с участием производных аспарагиновой и глутаминовой кислот, тем не менее затронутые здесь вопросы часто имеют непосредственное отношение и к синтезам с участием других аминокислот, имеющих ω-карбоксильную группу. Конденсации, в которых участвуют аминогруппа указанных моноаминодикарбоновых кислот и карбоксильная группа ацилированной аминокислоты или пептида, не представляют особых трудностей, поскольку реакционная способность обеих карбоксильных групп первого компонента может быть легко подавлена перед стадией конденсации. Однако если нужно создать пептидную связь с участием лишь одной из карбоксильных групп остатка моноаминодикарбоновой кислоты, то должны быть использованы такие условия, которые дают возможность производить предпочтительное ацилирование лишь данной карбоксильной группой и таким образом обеспечивают протекание реакции в желаемом направлении. Чтобы исключить участие одной карбоксильной группы в реакции конденсации, можно использовать следующие средства: а) образование внутримолекулярного циклического ангидрида, б) получение соответствующего сложного эфира и в) процесс, когда данная карбоксильная группа может быть оставлена открытой в процессе конденсации, причем в этом случае селективность обеспечивается соответствующим подбором условий реакции. Поскольку каждый из этих методов весьма существенно отличается от другого, представляется целесообразным рассмотреть их по отдельности.

а) Синтезы с использованием внутримолекулярных ангидридов. С введением в 1932 г. Бергманом и Зервасом [128] карбобензоксигруппы оказался доступным удобный путь синтеза пептидов, содержащих в качестве N-концевого остатка остаток глутаминовой или аспарагиновой кислоты. Своеобразие этого метода в том виде, в котором он был первоначально применен указанными исследователями, заключается в использовании в качестве ацилирующих агентов внутримолекулярных циклических ангидридов карбобензокси-L-аспарагиновой (CXXVII; $x = 1$) и карбобензокси-L-глутаминовой (CXXVII; $x = 2$) кислот. Получение этих реакционноспособных промежуточных соединений может быть легко осуществлено действием уксусного ангидрида на соответствующую ациламинокислоту (CXXVI) при нагревании [128] или, еще лучше, при комнатной температуре [609, 610] (методика 132), причем реакция протекает в отсутствие рацемизации. Поскольку нуклеофильная атака амином или аминоэфиром теоретически может идти по любому из двух карбонильных углеродных атомов ангидридного цикла CXXVII, то реакция конденсации может соответственно протекать с обра-

зованием α-амида (CXXVIII), ω-амида (CXXIX) или их смеси. Первоначальное предположение, что такого рода реакции идут преимущественно по

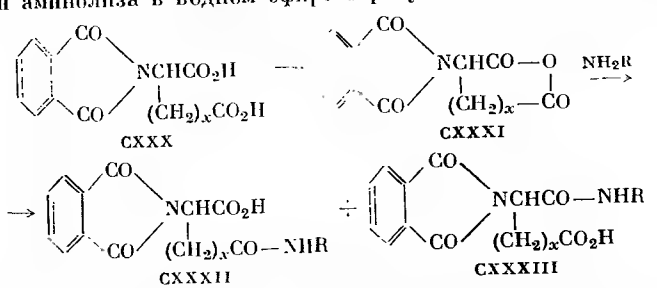


α-карбонильной группе, было основано на том факте, что при взаимодействии ангидридов карбобензокси-L-аспарагиновой или карбобензокси-L-глутаминовой кислоты с соответствующим амином из реакционной смеси были выделены исключительно карбобензоксипроизводные L-изоаспарагина (CXXVIII; $x = 1$, R = H), L-изоглутамина (CXXVIII; $x = 2$, R = H), этилового эфира L-α-глутамилглицина и диэтилового эфира α-L-глутамил-L-глутаминовой кислоты [128, 726, 878]. Однако позднее было установлено, что такого рода реакции не являются избирательными, поскольку α-изомер удается выделить из реакционной смеси в кристаллическом состоянии сравнительно редко, в то время как гораздо чаще получают смесь α- и ω-форм в различных соотношениях [378, 455, 609, 610, 838, 879—882]. Так, например, хотя ранее предполагалось, что взаимодействие ангидрида карбобензокси-L-глутаминовой кислоты с аммиаком приводит к получению индивидуального производного изоглутамина (CXXVIII; $x = 2$, R = H) [128], позднее Мелвиллом было показано [882], что сырой продукт реакции содержит около 14% изомерного γ-амида (CXXIX; $x = 2$, R = H); кроме того, Бергман, Зервас, Зальцман и Шлейх [378] установили, что при реакции ангидрида карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты с этиловым эфиром тирозина в пиридиновом растворе образуется главным образом этиловый эфир карбобензокси-β-L-аспартил-L-тирозина. Во всяком случае, если продукт реакции представляет собой смесь α- и ω-производных, то разделение изомеров может быть осуществлено фракционной экстракцией этой смеси водным раствором карбоната натрия согласно методу Ле Квесна и Янга [609, 610] (методика 133). Метод основан на том, что изомер со свободной α-карбоксильной группой (CXXIX) проявляет более сильные кислотные свойства, чем соответствующий γ-изомер (CXXVIII).

Типичная методика 132 [610]. Ангидрид карбобензокси-L-глутаминовой кислоты. Суспензию 20 *г* карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (см. методики 28 и 30) в 50 *мл* уксусного ангидрида оставляют при комнатной температуре и периодически перемешивают до полного растворения осадка. Затем растворитель отгоняют в вакууме при 50—60° и остаток растворяют при нагревании в смеси 40 *мл* сухого хлороформа и 40 *мл* эфира. Раствор оставляют на 1 *час* при 0° и кристаллический продукт реакции отфильтровывают на воронке Бюхнера; выход 13 *г* (70%), т. пл. 93—94°, $[\alpha]_D$ —45,1° (10%, в ледяной уксусной кислоте).

Типичная методика 133 [610]. Этиловый эфир карбобензокси-α-L-глутамил-L-валина. К раствору 1,1 *г* хлоргидрата этилового эфира L-валина (методика 48) и 1,5 *г* бикарбоната калия в 10 *мл* воды, покрытому слоем этилацетата (10 *мл*), при перемешивании добавляют в течение 2—3 *мин* раствор 1,5 *г* ангидрида карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (методика 132) в 10 *мл* этилацетата; перемешивание продолжают еще 2 *час* и реакционную смесь оставляют на ночь при комнатной температуре. Затем водный слой отделяют, подкисляют 5 н. соляной кислотой и, наконец, дважды экстрагируют этилацетатом. Этилацетатный раствор промывают водой и тщательно экстрагируют водным раствором карбоната натрия (четыре раза порциями, содержащими по 0,06 *г* Na_2CO_3, и один раз — 0,5 *г* Na_2CO_3); каждую порцию содового экстракта по отдельности подкисляют 5 н. соляной кислотой. При подкислении последней фракции выпадает масло, которое вскоре кристаллизуется; его растворяют в этилацетате, вновь фракционно экстрагируют водным раствором карбоната натрия и в результате получают кристаллическое вещество. После его перекристаллизации из этилацетата выделяют 1 *г* (32%) этилового эфира карбобензокси-α-L-глутамил-L-валина с т. пл. 119—121°. При дальнейшей перекристаллизации температура плавления возрастает до 122—124°.

В противоположность поведению ангидрида карбобензоксиглутаминовой кислоты конденсация ангидрида фталилглутаминовой кислоты (CXXXI; $x = 2$) с различными аминами почти всегда приводит к образованию соответствующих γ-амидов (CXXXII; $x = 2$). Это было впервые отмечено в 1949 г. Кингом и Киддом [527], которые при обработке раствора соответствующего ангидрида (CXXXI) (методика 134) в диоксане раствором аммиака в сухом эфире (методика 135) получили в качестве единственного продукта реакции фталил-L- (и DL-)-глутамин (CXXXII; $x = 2$, R = H). Аналогично, при действии глицина на ангидрид фталил-DL-глутаминовой кислоты в горячей ледяной уксусной кислоте образуется фталил-γ-DL-глутамилглицин, в то время как при взаимодействии соответствующего L-ангидрида с диэтиловым эфиром L-глутаминовой кислоты в смеси эфира с диоксаном при комнатной температуре получают диэтиловый эфир фталил-γ-L-глутамил-L-глутаминовой кислоты. Тот факт, что реакция аминолиза, как правило, приводит к соответствующим γ-производным, был впоследствии подтвержден Кингом и его сотрудниками [607, 872], а также другими исследователями [535, 874, 883, 884]. Аналогично, проведенное Таненбаумом [885] исследование химического поведения ангидрида фталиласпарагиновой кислоты показало, что направление раскрытия ангидридного цикла при реакции аминолиза в значительной степени определяется природой применяемого растворителя. Так, в то время как раскрытие цикла ангидрида фталиласпарагиновой кислоты при действии аммиака в водном спирте приводит к преимущественному образованию фталилизоаспарагина (CXXXIII; $x = 1$, R = H), аналогичная реакция в безводном эфире приводит почти исключительно к производному аспарагина (CXXXII; $x = 1$, R = H). С другой стороны, при проведении аминолиза в водном эфире образуется смесь фталиласпарагина



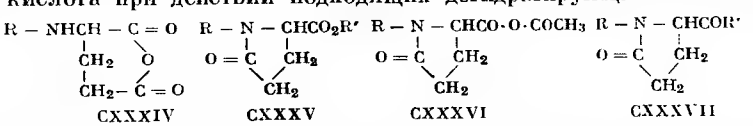
и фталилизоаспарагина. Таким образом, «чувствительность» одной или другой карбонильной группы указанного циклического ангидрида к амино-

лизу при данных условиях определяется соотношением конкурирующих реакций, одна из которых приводит к α-, а другая — к γ-производным; первая реакция становится более предпочтительной в полярных растворителях. На этом основании было сделано предположение, что присутствие воды или водного спирта обусловливает катализируемую кислотами атаку иона аммония по α-карбонильной группе, в то время как ω-карбонильная группа более чувствительна к реакциям, катализируемым основаниями [885].

Типичная методика 134 [527]. Ангидрид фталил-L-глутаминовой кислоты. Раствор 7,5 *г* фталил-L-глутаминовой кислоты (методика 35) в 20 *мл* уксусного ангидрида нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 *мин*, концентрируют в вакууме, остаток обрабатывают эфиром и продукт реакции выделяют в виде блестящих призм; выход 4,65 *г* (67%), т. пл. 195—196°.

Типичная методика 135 [527]. Фталил-L-глутамин. Раствор 4,9 *г* ангидрида фталил-L-глутаминовой кислоты (методика 134) в 40 *мл* теплого диоксана охлаждают холодной водой и затем к нему добавляют небольшими порциями раствор аммиака в сухом эфире (в избытке). После того как осаждение закончилось, объемистый осадок аммонийной соли отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают эфиром и затем растворяют в небольшом количестве воды. Подкисление водного раствора 5 н. соляной кислотой (по конго красному) приводит к медленному осаждению продукта реакции; смесь оставляют на несколько часов при 4° и затем осадок отфильтровывают. Выход 4 *г* (77%); после перекристаллизации из воды т. пл. 163°, $[\alpha]_D^{18}$ —16,9° (в 0,33 н. водном растворе карбоната натрия).

Действие таких водоотнимающих реагентов, как уксусный ангидрид или хлористый тионил, на ацетильное [292], трифторацетильное [568, 573], фенилацетильное [886, 887], карбобензокси- [128], *п*-нитробензоильное [608, 888], *п*-нитрокарбобензокси- [509] и фталильное [527] производные глутаминовой кислоты приводит к образованию соответствующих внутримолекулярных циклических ангидридов типа CXXXIV. С другой стороны, α-эфиры некоторых N-ацилглутаминовых кислот в аналогичных условиях дегидратации превращаются в N-ацилпироглутаминовые (N-ацилпирролид-5-он-2-карбоновые) кислоты (CXXXV); например, при обработке α-бензилового эфира карбобензокси-L-глутаминовой кислоты пятихлористым фосфором в ряде случаев образуется бензиловый эфир N-карбобензоксипироглутаминовой кислоты (CXXXV; R = $C_6H_5CH_2OCO$, R′ = $C_6H_5CH_2$) [889]. В противоположность другим ацилглутаминовым кислотам тозилглутаминовая кислота при действии подходящих дегидратирующих агентов легко



превращается в N-тозилпироглутаминовую кислоту (CXXXV; R = H_3C — C_6H_4— SO_2, R′ = H), а не в соответствующий внутримолекулярный ангидрид (CXXXIV). Такое аномальное поведение тозил-L-глутаминовой кислоты было впервые отмечено в 1940 г. Харингтоном и Могриджем [434], которые при ее взаимодействии с уксусным ангидридом или хлористым ацетилом получили смешанный ангидрид тозилпироглутаминовой и уксусной кислот (CXXXVI; R = H_3C — C_6H_4 — SO_2). Мягкий гидролиз смешанного ангидрида в 70%-ном водном диоксане привел к тозилпироглутаминовой кислоте (CXXXV; R = H_3C — C_6H_4— SO_2, R′ = H), которая была пере-

ведена в соответствующий хлорангидрид (CXXXVII; R′ = Cl) путем обработки пятихлористым фосфором. Тот же самый хлорангидрид, а также соответствующую кислоту еще проще получать действием хлористого тионила на тозилглутаминовую кислоту (методики 136 и 137). Обработка хлорангидрида тозилпироглутаминовой кислоты аммиаком приводит к образованию амида тозилпироглутаминовой кислоты (CXXXVII; R = H_3C — C_6H_4 — SO_2, R′ = NH_2) (методика 138), который в присутствии одного эквивалента теплой водной щелочи претерпевает расщепление цикла с образованием тозил-L-изоглутамина (методика 139). Таким образом, эти исследования заложили фундамент, на котором в будущем был создан и получил развитие один из наиболее удобных и перспективных методов получения пептидов с N-концевой глутаминовой кислотой.

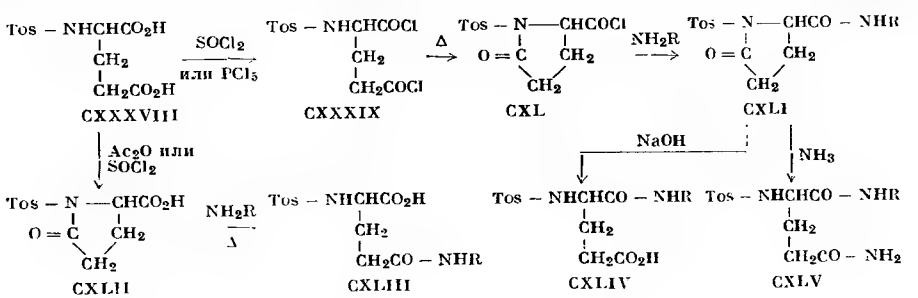
Типичная методика 136 [436]. Тозил-L-пироглутаминовая кислота. Исходную тозил-L-глутаминовую кислоту получают путем одновременного добавления 250 *мл* 4 н. раствора едкого натра и раствора 190 *г* *п*-толуолсульфохлорида в 500 *мл* ацетона к раствору 147 *г* L-глутаминовой кислоты в 500 *мл* 4 н. раствора едкого натра; ацетон упаривают в вакууме, теплый водный раствор подкисляют (по конго красному) и оставляют при 0° на 12 *час*. Выход кристаллического продукта реакции составляет 264 *г*; т. пл. 140—142° после двух перекристаллизаций из воды и 145—146° — после третьей перекристаллизации. Суспензию 30,1 *г* *п*-толуолсульфонил-L-глутаминовой кислоты в 50 *мл* чистого свежеперегнанного хлористого тионила встряхивают до полного растворения осадка (6—10 *час*.) Реакционную смесь разбавляют 50 *мл* эфира, фильтруют на воронке с пористым стеклянным фильтром, небольшой осадок промывают на фильтре 50 *мл* эфира и объединенные фильтрат и промывные воды разбавляют петролейным эфиром до помутнения раствора. После начала кристаллизации медленно добавляют еще 350 *мл* петролейного эфира, смесь охлаждают до 0°, осадок отфильтровывают, промывают петролейным эфиром и высушивают в вакууме над гранулированным едким натром и парафином; выход 26,1 *г* (92%), т. пл. 127—129°.

Типичная методика 137 [436, 443]. Хлорангидрид тозил-L-пироглутаминовой кислоты. Суспензию 30,1 *г* тозил-L-глутаминовой кислоты (см. методику 136) в 50 *мл* хлористого тионила кипятят до образования прозрачного раствора и затем еще в течение 15 *мин*. Избыток хлористого тионила отгоняют в вакууме, остаток растворяют в бензоле и бензол вновь упаривают. Маслообразный остаток растворяют в 100 *мл* кипящего эфира, эфирный раствор охлаждают до 0°, разбавляют 100 *мл* петролейного эфира и оставляют при 0° на 1 *час*. Кристаллический продукт реакции отфильтровывают; 26,8 *г*; т. пл. 103—105°. После перекристаллизации из бензола т. пл. 106—107°; метастабильная форма того же самого соединения плавится при 83—85°.

Типичная методика 138 [434, 435, 443]. Амид тозил-L-пироглутаминовой кислоты. Раствор 5,3 *г* хлорангидрида тозил-L-пироглутаминовой кислоты (методика 137) в 10 *мл* хлороформа охлаждают в бане со льдом и к нему добавляют небольшими порциями раствор аммиака в хлороформе (насыщенный при 0°) до появления устойчивого аммиачного запаха. Смесь оставляют на 10 *мин* при 0°, обрабатывают 2 н. соляной кислотой, осадок отфильтровывают на воронке Бюхнера и тщательно промывают водой, 96%-ным этанолом и эфиром. Выход 4,8 *г* (96,5%), т. пл. 192—193°; после перекристаллизации из воды температура плавления 194—195°.

Типичная методика 139 [434]. Тозил-L-изоглутамин. Смесь 1 эквивалента амида тозил-L-пироглутаминовой кислоты (методика 138) и 1 эквивалента 1 н. водного раствора едкого натра нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 *мин*, охлаждают и подкисляют соляной кислотой. При этом осаждается продукт реакции с выходом 90—95%, который после перекристаллизации из водного этанола образует иглы. Вещество плавится в интервале 158—170°, что свидетельствует, по-видимому, о том, что при нагревании происходит заметная циклизация.

В период 1953—1954 гг. Дю Виньо и его сотрудники [435, 716] в США и независимо Рудингер [436, 890] в Чехословакии использовали N-тозилпироглутаминовую кислоту, впервые описанную Харингтоном и Могриджем [434], в качестве ключевого промежуточного соединения для синтеза пептидов с N-концевым остатком глутамина, а также пептидов, в которых α- или γ-карбоксильная группа остатка глутаминовой кислоты связана амидной связью с амином или остатком другой аминокислоты. Таким образом, ввиду чрезвычайной легкости, с которой пирролидиновый цикл тозилпироглутаминовой кислоты претерпевает расщепление в результате аминолиза амидной связи, становится возможным без труда получать N-тозил-γ-глутамилпроизводные (CXLIII) путем превращения тозил-L-глутаминовой кислоты (CXXXVIII) в тозил-L-пироглутаминовую кислоту (CXLII) (методика 136) и дальнейшего взаимодействия последней с соответствующим амином в водной (методика 140) или в органической (методика 141) среде. С другой стороны, получение соответствующих α-глутамилпроизводных (CXLIV и CXLV) требует активации карбоксильной группы тозилпироглутаминовой кислоты перед ее введением в реакцию конденсации. Для этой цели вполне удовлетворительно может быть использован соответствующий хлорангидрид (CXL), образующийся при действии пятихлористого фосфора или хлористого тионила на тозил-L-глутаминовую кислоту (CXXXVIII); этот синтез протекает, по-видимому, с промежуточным образованием дихлорангидрида тозилглутаминовой кислоты (CXXXIX; т. пл. 74—75° с разложением), который можно или выделить в индивидуальном состоянии, или подвергнуть внутримолекулярной циклизации к требуемому соединению с отщеплением молекулы хлористого водорода [686]. Конденсация CXL с эфиром аминокислоты в инертном органическом растворителе [436] или с самой аминокислотой в слабощелочной водной среде [435, 868] приводит к соответствующему производному тозилпироглутаминовой кислоты (CXLI) (методика 142), которое под влиянием водной щелочи претерпевает легкое расщепление с раскрытием цикла до соответствующего тозил-α-глутамилпроизводного (CXLIV); при наличии сложноэфирной группы последняя может быть легко омылена путем обработки щелочью (методика 143). Однако если промежуточное производное тозилпироглутаминовой кислоты (CXLI)



подвергнуть действию водного аммиака, то раскрытие цикла приводит к образованию производного глутамина (CXLV). Аналогичная последовательность реакций не может быть использована для тозиласпарагиновой кислоты, поскольку обработка этого соединения дегидратирующими агентами приводит к ангидриду тозиласпарагиновой кислоты [434]. Такое поведение легко объяснимо на основании того, что в данном случае внутримолекулярная циклизация, заключающаяся в ацилировании атома азота, связана с образованием крайне напряженного четырехчленного цикла.

Типичная методика 140 [435]. Тозил-L-глутамин. Раствор 0,5 *г* тозил-L-пироглутаминовой кислоты (методика 136) в 10 *мл* водного аммиака оставляют на ночь при комнатной температуре и затем выпаривают досуха в вакууме. При подкислении остатка получают 0,41 *г* продукта реакции, т. пл. 157—159°. После перекристаллизации из этилацетата температура плавления повышается до 164—165°; $[\alpha]_D^{21}$ +8,5° (2,4%, в 0,5 н. растворе бикарбоната калия).

Типичная методика 141 [890]. Этиловый эфир *п*-толуолсульфонил-γ-L-глутамилглицина. Смесь 14,15 *г* (0,05 моля) безводной тозил-L-пироглутаминовой кислоты (методика 136), 7 *г* (0,05 моля) хлоргидрата этилового эфира глицина (методика 48), 75 *мл* ацетонитрила и 15 *мл* (0,11 моля) N-этилпиперидина кипятят 3 *час*, охлаждают и растворитель отгоняют в вакууме. Маслообразный остаток растирают с 50 *мл* разбавленной соляной кислоты, образовавшийся белый кристаллический осадок отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают водой и растворяют в 5%-ном растворе бикарбоната натрия. Нерастворимые примеси отфильтровывают, а основной продукт реакции осаждают путем подкисления фильтрата концентрированной соляной кислотой; выход 15,4 *г* (80%), т. пл. 190—191°. После перекристаллизации из водного этанола вещество плавится при 191°.

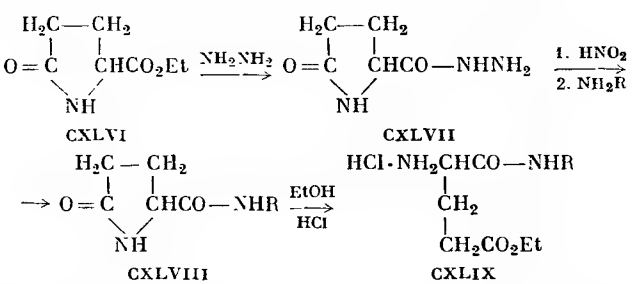
Типичная методика 142 [890]. Этиловый эфир тозил-L-пироглутамилглицина. К раствору 15,1 *г* хлорангидрида тозил-L-пироглутаминовой кислоты (методика 137) в 100 *мл* хлороформа добавляют 7,7 *г* хлоргидрата этилового эфира глицина (методика 48) и 9 *г* бикарбоната натрия и к полученной суспензии добавляют 40 *мл* воды. Реакционную смесь встряхивают до окончания выделения двуокиси углерода (около 10 *мин*) и затем оставляют еще на 30 *мин* при периодическом встряхивании. Хлороформный слой отделяют, промывают разбавленной соляной кислотой (2 × 50 *мл*) и выпаривают досуха. Полученный кристаллический остаток перекристаллизовывают из минимального количества 96%-ного этанола; выход 15,6 *г* (85%); т. пл. 132—133°.

Кроме указанных выше соединений, аналогичным образом были получены бензиловый эфир тозил-L-пироглутамилглицина (т. пл. 90—92°) и этиловый эфир тозил-L-пироглутамил-L-тирозина (моногидрат, т. пл. 133°) [436]; каталитический гидрогенолиз первого соединения привел к выделению тозил-L-пироглутамилглицина (т. пл. 198—200°). С другой стороны, получение тозил-L-пироглутамил-L-аспарагина (т. пл. 150—151°, $[\alpha]_D^{21}$ —42,7°, в 0,5 н. $KHCO_3$) проводят в слабощелочной водной среде [435, 868]. Конденсация этого соединения с этиловым эфиром S-бензил-L-цистеина с помощью метода смешанных ангидридов или пирофосфитного метода приводит к этиловому эфиру тозил-L-пироглутамил-L-аспарагинил-S-бензил-L-цистеина (т. пл. 186—187°) [868]. Были также описаны метиловый эфир (т. пл. 150°, $[\alpha]_D^{23}$ +11,6°, в диоксане), этиловый эфир (т. пл. 150°, $[\alpha]_D^{22}$ —17,0°, в диок-

сане) и свободная кислота (т. пл. 89—90°), отвечающие тозил-L-пироглутамил-S-бензил-L-цистеину [432a].

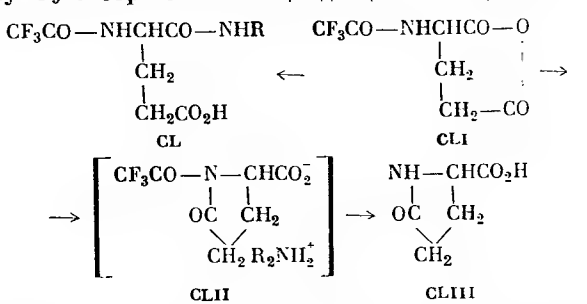
Типичная методика 143 [890]. Тозил-L-α-глутамилглицин. Раствор 3,68 *г* этилового эфира тозил-L-пироглутамилглицина (методика 142) в 20 *мл* ацетона охлаждают до 0° и обрабатывают смесью 7,5 *мл* 4 н. раствора едкого натра и 12,5 *мл* метанола. Раствор упаривают до небольшого объема в вакууме при температуре не выше 40°; при подкислении остатка соляной кислотой выпадает масло, которое отделяют декантацией, растворяют в 7,5 мл 4 н. раствора едкого натра, полученный раствор оставляют на 10 *мин* и затем подкисляют. Продукт реакции кристаллизуется в виде игл; выход 2,6 *г* (72%), т. пл. 213°.

В 1950 г. был предложен новый путь синтеза пептидов с N-концевым α-глутамильным остатком, основанный на наблюдении, что пирролидоновый цикл производных неацилированной пироглутаминовой кислоты претерпевает легкое расщепление по лактамной связи при действии этанольного раствора хлористого водорода [648]. Этот путь заключается в первоначальном превращении этилового эфира L-пироглутаминовой кислоты (CXLVI) в соответствующий гидразид (CXLVII) путем обработки гидразином в абсолютном этаноле. Взаимодействие CXLVII с азотистой кислотой приводит к азиду, который в свою очередь легко вступает в конденсацию с диэтиловым эфиром L-глутаминовой кислоты с образованием диэтилового эфира L-пироглутамил-L-глутаминовой кислоты (CXLVIII; $R = CH(CO_2Et)CH_2CH_2CO_2Et$). Обработка последнего этанольным раствором хлористого водорода ведет к раскрытию лактамного цикла и одновременной этерификации с образованием триэтилового эфира L-α-глутамил-L-глутаминовой кислоты (CXLIX; $R = CH(CO_2Et)CH_2CH_2CO_2Et$); при аналогичной обработке этанольным раствором HCl амид L-пироглутаминовой кислоты (CXLVIII; R = H) превращается в этиловый эфир L-изоглутамина (CXLIX; R = H), хотя и с низким выходом [509, 648]. В других пептидных синтезах производные неацилированной пироглутаминовой кислоты нашли лишь ограниченное применение, что было связано, по-видимому, с введением в синтетическую пептидную химию более удовлетворительных методов, основанных на использовании производных N-тозилпироглутаминовой кислоты.



Кроме указанных выше фталил- и карбобензоксипроизводных ангидридов аспарагиновой и глутаминовой кислот, недавно были описаны ангидриды *п*-нитрокарбобензокси-L- [509], N-бензил-DL- [558] и трифторацетил-L-аспарагиновых кислот [576], а также ангидриды *п*-нитрокарбобензокси-L- [509], фенилтиокарбонил-L- [579] и трифторацетил-L-глутаминовых кислот [568, 573]. Изучение этих соединений подтвердило высказанный ранее вывод, что степень участия α- или ω-карбонильного углеродного атома

ангидрида в реакции с амином или аминоэфиром определяется, по крайней мере частично, природой N-защитной группы и зависит от применяемых условий реакции. Так, действие водного аммиака, безводного аммиака в диоксане или аммиака в этаноле на ангидрид *п*-нитрокарбобензокси-L-аспарагиновой кислоты и соответствующее производное глутаминовой кислоты приводит, как было показано Чемберсом и Карпентером [509], к смеси α- и ω-амидов, в которой заметно преобладает первый компонент; направление раскрытия цикла в сторону образования α-амидов было характерным и для изучавшихся ранее карбобензоксиангидридов. С другой стороны, действие водных или ацетоновых растворов аминов или эфиров аминокислот на ангидрид N-бензил-DL-аспарагиновой кислоты приводит, как было установлено Цилька и Лившицом [558], к образованию β-производных, иногда наряду с соответствующими α-изомерами; напротив, при действии аммиака выделяют исключительно соответствующие производные изоаспарагина. В настоящее время не имеется никаких данных о химическом поведении ангидрида фенилтиокарбонил-L-глутаминовой кислоты [579] и ангидрида трифторацетил-L-аспарагиновой кислоты [576] при их обработке различными аминами. В противоположность этому было детально изучено взаимодействие ангидрида трифторацетил-L-глутаминовой кислоты с различными аминами и при этом были получены весьма интересные результаты. Так, Вейгандом и Лейзингом [568] было показано, что при действии анилина на указанный ангидрид (CLI) в тетрагидрофурановом растворе образуется соответствующий α-анилид (CL; $R = C_6H_5$). В последующем сообщении Вейганда и Рейхера [573] отмечалось, что если аналогичную реакцию проводить с дициклогексиламином, а не с анилином, то при этом вместо ожидаемого дициклогексиламида образуется вещество, растворяющееся при его промывании водой; выделение и анализ этого растворимого в воде соединения позволили идентифицировать его как рацемическую пирролидонкарбоновую кислоту (CLIII). Было высказано предположение, что указанное соединение получается в результате значительной активации имидного водородного атома под влиянием электроотрицательной CF_3-группы, приводящей к образованию соли с дициклогексиламином и последующей внутримолекулярной нуклеофильной атаке атомом азота имидной группы по углеродному атому C_5 с образованием N,N-диациламида (CLII).



Легкое расщепление последнего до CLIII при гидролитическом действии воды связано с общей нестабильностью соединений этого типа, в то время как рацемизация при углеродном атоме C_2 вызвана увеличением подвижности соответствующего атома водорода. Во всяком случае, становится очевидным, что ход реакции ангидрида ацилированной глутаминовой или аспарагиновой кислоты с амином в значительной степени определяется при

Таблица 92

Внутримолекулярные ангидриды ацилглутаминовых и ациласпарагиновых кислот

Соединение	Т. пл., °С	Литература
Производные аспарагиновой кислоты		
Ангидрид N-бензил-DL-аспарагиновой кислоты (хлоргидрат)	157	558
Ангидрид карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты	109—111 [а]	128, 602, *609*
Ангидрид *n*-нитрокарбобензокси-DL-аспарагиновой кислоты	163—164,5	509
Ангидрид фталил-L-аспарагиновой кислоты	227—228 [б]	528, *885*
Ангидрид тозил-DL-аспарагиновой кислоты	148	434
Ангидрид трифторацетил-L-аспарагиновой кислоты	133—134 [в]	576
Производные глутаминовой кислоты		
Ангидрид карбобензокси-DL-глутаминовой кислоты	108—109	610
Ангидрид карбобензокси-L-глутаминовой кислоты	94 [г]	10, *128*, 610
Ангидрид *n*-нитрокарбобензокси-L-глутаминовой кислоты	156—158 [д]	509
Ангидрид фталил-DL-глутаминовой кислоты	195—196 (с разл.)	527
Ангидрид фталил-L-глутаминовой кислоты	196—198 [е]	*523*, 527, 533
Ангидрид фенилтиокарбонил-L-глутаминовой кислоты	166—168	579
Тозил-DL-пироглутаминовая кислота [ж]	169—170	433
Тозил-DL-пироглутаминовая кислота (гидрат) [ж]	122—130	433
Тозил-D-пироглутаминовая кислота [ж]	128—130	433
Тозил-D-пироглутаминовая кислота (гидрат) [ж]	68—69	433
Тозил-L-пироглутаминовая кислота [ж]	129—130	436
Тозил-L-пироглутаминовая кислота (гидрат) [ж]	68—70	436
Ангидрид трифторацетил-L-глутаминовой кислоты	70 [з]	*568*, 573

[а] $[\alpha]_D^{19}$ −39,8° (4,1%, в уксусной кислоте) [128].

[б] $[\alpha]_D^{15}$ −60° (0,3%, в диметилформамиде), т. пл. 210—213° [528].

[в] $[\alpha]_D^{22}$ −22,3° (0,6%, в тетрагидрофуране).

[г] $[\alpha]_D^{19}$ −44,1° (5,5%, в уксусной кислоте) [128].

[д] $[\alpha]_D^{24}$ −34,2° (2,5%, в диоксане).

[е] $[\alpha]_D^{21}$ −43,1° (1,8%, в диоксане).

[ж] Пироглутаминовая кислота — пирролид-5-он-2-карбоновая кислота.

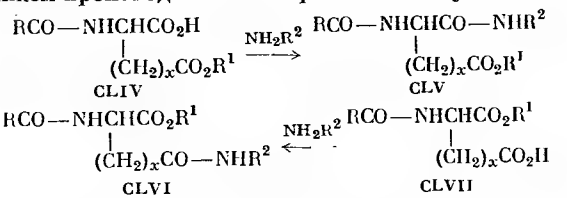
[з] $[\alpha]_D^{20}$ −38,5° (1,3%, в тетрагидрофуране).

родой применяемого амина, а также характером ацильного заместителя и природой используемого растворителя.

В табл. 92 приведены температуры плавления ангидридов ряда ацилированных аспарагиновых и глутаминовых кислот, а также тозилпироглутаминовых кислот.

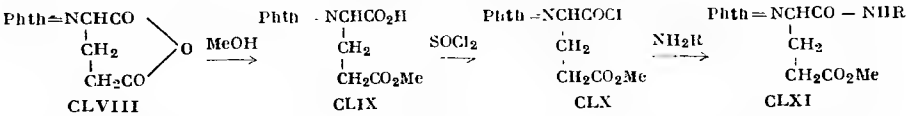
б) Синтезы с использованием полуэфиров. Другой путь синтеза пептидов аспарагиновой и глутаминовой кислот вышеуказанного типа был предложен в 1933 г. Бергманом, Зервасом и Зальцманом [602]. Этот метод заключается в предпочтительной защите одной или другой карбоксильной группы

ацилированной аспарагиновой или глутаминовой кислоты перед конденсацией путем образования сложного эфира (CLIV или CLVII); последующая конденсация незащищенной карбоксильной группы полуэфира ациламинодикарбоновой кислоты с соответствующим амином одним из подходящих методов приводит к нужному пептидному производному (CLV или CLVI). Хотя первоначальные исследования были ограничены превращением α-бензиловых эфиров карбобензокси-L-аспарагиновой и карбобензокси-L-глутаминовой кислот (CLVII; $R = C_6H_5CH_2O$, $R^1 = C_6H_5CH_2$, $x = 1$ или 2) в соответствующие хлорангидриды и их последующим взаимодействием с аммиаком с образованием производных L-аспарагина и L-глутамина соответственно

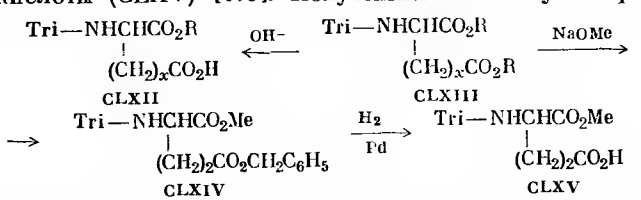


(CLVI; $R^2 = H$), дальнейшее приложение этого метода привело к получению соединений, в которых ω-карбоксильная группа аспарагиновой или глутаминовой кислоты соединена пептидной связью с остатком другой аминокислоты [378, 726, 836]. Необходимые для этой цели α-бензиловые эфиры карбобензокси-L-аспарагиновой и карбобензокси-L-глутаминовой кислот могут быть получены путем взаимодействия ангидрида соответствующей ациламинокислоты с бензиловым спиртом [602], хотя в данном случае производные глутаминовой кислоты обычно получаются в виде сиропа (по-видимому, вследствие наличия примесей γ-изомера) и могут быть очищены до кристаллического состояния лишь путем фракционной экстракции водным раствором карбоната натрия [610]; α-бензиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты может быть получен также в чистом состоянии путем карбобензоксилирования α-бензилового эфира глутаминовой кислоты в водно-щелочной среде [662]. Вместо α-бензиловых эфиров в аналогичных синтезах могут быть использованы соответствующие α-метиловые или α-этиловые эфиры карбобензокси-L-аспарагиновой или карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (CLVII; $R = C_6H_5CH_2O$, $R^1 = CH_3$ или C_2H_5) [10, 475, 609]; кроме того, наряду с хлорангидридным методом могут применяться и другие методы конденсации [475, 891]. Так, например, один из первых синтезов глутатиона, осуществленный Харингтоном и Мидом [10], включал в себя на одной из промежуточных стадий конденсацию γ-хлорангидрида α-метилового эфира карбобензокси-L-глутаминовой кислоты с этиловым эфиром S-бензил-L-цистеинилглицина; аналогичный синтез, проведенный Гольдшмидтом и Ютцом [475], был основан на использовании фосфоразо-метода. Кроме того, взаимодействие γ-хлорангидридов карбобензокси-α-глутамилпроизводных с аммиаком дает возможность осуществить синтез соответствующих производных глутамина [882], в то время как конденсация γ-карбоксильной группы пептидов, содержащих остаток α-эфира карбобензоксиглутаминовой кислоты, с каким-либо аминоэфиром с помощью *о*-фениленхлорфосфита приводит к производным, в которых обе карбоксильные группы остатка глутаминовой кислоты участвуют в образовании пептидной связи [891]. Для синтеза пептидов глутаминовой кислоты α-ряда (CLV) был использован γ-метиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (CLIV; $R = C_6H_5CH_2O$, $R^1 = CH_3$) тем же способом, что и в случае соответствующих α-эфиров [677].

В синтезах α- и ω-пептидов аспарагиновой и глутаминовой кислот с различной степенью успеха были использованы также полуэфиры ряда ацилированных аспарагиновых и глутаминовых кислот, содержащих в качестве N-ацильного заместителя, кроме карбобензоксигруппы, ряд других группировок. Наиболее удовлетворительным для этой цели оказались соответствующие N-фталил- и N-тритилпроизводные. Например, тот факт, что обработка ангидрида фталилглутаминовой кислоты (CLVIII) метанолом почти всегда приводит к образованию γ-эфира фталилглутаминовой кислоты (CLIX) [892], был с успехом использован в 1957 г. Кингом, Кларк-Льюисом и Вейдом [533] для синтеза пептидов глутаминовой кислоты α-ряда (методика 144); превращение полученного γ-метилового эфира в соответствующий хлорангидрид (CLX) с помощью хлористого тионила и последующее взаимодействие этого хлорангидрида с эфиром аминокислоты привели к нужному α-глутамилпроизводному (CLXI) (методика 145). В случае



N-тритильных производных избирательность реакции связана со стерическими препятствиями, обусловленными объемистой тритильной группой, что дает возможность легко получать соответствующий моноэфир (CLXII и CLXV). Поскольку вследствие стерического экранирования, вызванного тритильной группировкой, омыление α-сложноэфирной группы α, ω-диэфиров тритилглутаминовой и тритиласпарагиновой кислот (CLXIII; $x = 1$ или 2) довольно затруднено, то могут быть найдены условия, при которых происходит быстрый гидролиз лишь ω-сложноэфирной группы и на этой основе становится возможным получение α-эфиров тритилглутаминовой и тритиласпарагиновой кислот (CLXII; $x = 1$ или 2) [675, 790]; кроме того, обработка дибензилового эфира тритил-L-глутаминовой кислоты (CLXIII; $R = C_6H_5CH_2$, $x = 2$) метанольным раствором метилата натрия приводит к соединению CLXIV, которое в присутствии палладиевого катализатора легко подвергается гидрогенолизу до α-метилового эфира тритил-L-глутаминовой кислоты (CLXV) [675]. Полученные таким путем тритилирован-

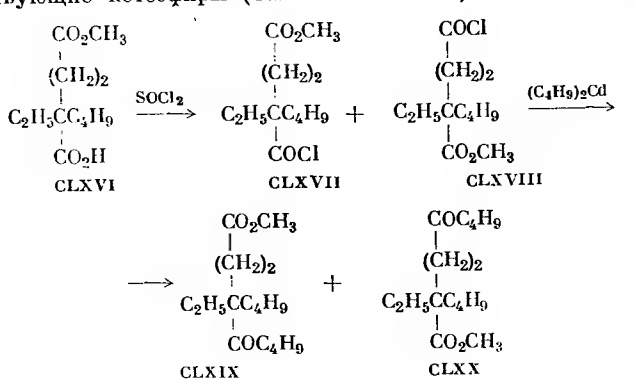


ные полуэфиры были с успехом использованы для синтеза пептидов аспарагина, глутамина и изоглутамина [790]. Далее следует отметить, что β-аспартил- и γ-глутамилпроизводные могут быть получены аналогичным образом на основе использования α-этиловых эфиров трифторацетил-L-аспарагиновой и трифторацетил-L-глутаминовой кислот, образующихся в свою очередь при действии этанола на ангидрид соответствующей трифторацетиламинокислоты [477, 576]. Хотя γ-метиловый эфир тозилглутаминовой кислоты может быть получен в чистом состоянии путем метанолиза лактамной связи тозилпироглутаминовой кислоты метанольным раствором метилата натрия, это соединение до настоящего времени не было использовано в синтезе пептидов глутаминовой кислоты.

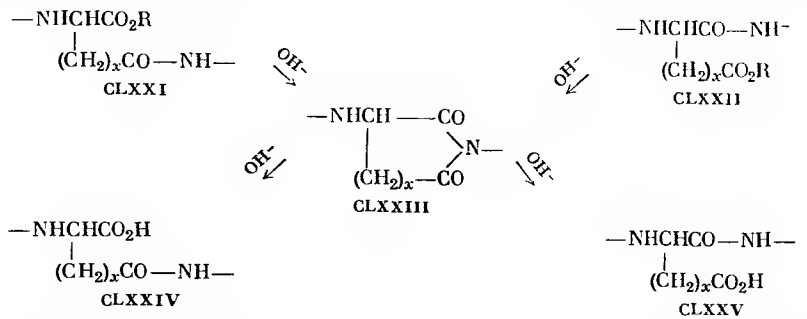
Типичная методика 144 [533]. γ-Метиловый эфир фталил-L-глутаминовой кислоты. Суспензию 15 *г* ангидрида фталил-L-глутаминовой кислоты (методика 134) в 200 *мл* метанола кипятят до полного растворения ангидрида, затем раствор кипятят еще 15 *мин* и реакционную смесь выпаривают в вакууме досуха. После кристаллизации твердого остатка из смеси бензола с петролейным эфиром получают продукт реакции в виде призм; выход 13,5 *г* (80%), т. пл. 135—136°. Дальнейшая перекристаллизация из смеси этилацетата с петролейным эфиром приводит к повышению температуры плавления до 136—137°; $[\alpha]_D^{20}$ —40,5° (2,7%, в хлороформе).

Типичная методика 145 [533]. Диметиловый эфир фталил-α-L-глутамилглицина. Раствор 2 *г* γ-метилового эфира фталил-L-глутаминовой кислоты (методика 144) в 6 *мл* хлористого тионила оставляют при комнатной температуре на 14 *час* и затем избыток хлористого тионила отгоняют при пониженном давлении. Последние следы хлористого тионила удаляют путем добавления сухого бензола и его отгонки в вакууме (эту операцию повторяют дважды). Оставшийся сиропообразный хлорангидрид растворяют в 15 *мл* сухого бензола и полученный раствор добавляют по каплям при перемешивании к раствору 0,9 *г* хлоргидрата метилового эфира глицина и 2,1 *мл* триэтиламина в 10 *мл* сухого хлороформа. Реакционную смесь оставляют на ночь, растворитель упаривают в вакууме и остаток последовательно промывают водой, водным раствором бикарбоната натрия и опять водой. Продукт реакции кристаллизуют из смеси этилацетата с петролейным эфиром; выход 2,2 *г* (85%); т. пл. 80—82°. После еще одной перекристаллизации из той же самой смеси температура плавления повышается до 82—83°; $[\alpha]_D^{21}$ —3,1° (1,4%, в хлороформе).

Хотя использование указанных выше полуэфиров представляет собой, по-видимому, один из удобных путей синтеза пептидов аспарагиновой и глутаминовой кислот известного строения, тем не менее при этом в ряде случаев существует опасность изомеризации. Так, еще в 1948 г. Кейсоном [893] было отмечено, что хлорангидриды полуэфиров алифатических дикарбоновых кислот проявляют заметную тенденцию к легкой изомеризации, заключающейся в обмене алкоксигруппы с атомом хлора. Примером этого может служить легко протекающая перегруппировка любого из хлорангидридов двух полуэфиров α-бутил-α-этилглутаровой кислоты (например, CLXVI) при хранении, приводящая к смеси двух изомеров (CLXVII и CLXVIII); сами хлорангидриды не идентифицировали, а переводили перед выделением в соответствующие кетоэфиры (CLXIX и CLXX). Поскольку при работе

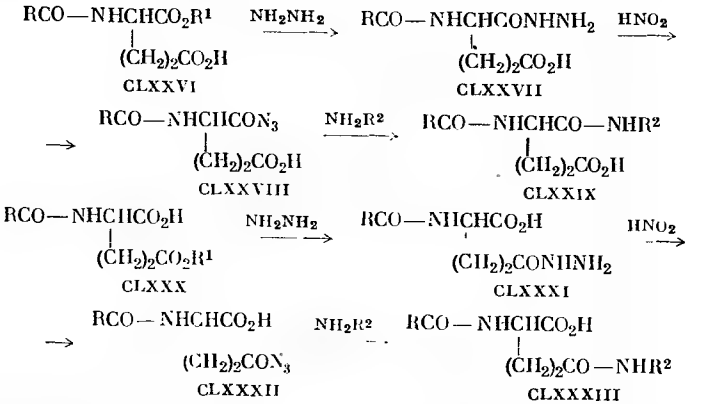


с полуэфирами ацилированных глутаминовой и аспарагиновой кислот существует опасность аналогичной изомеризации, то следует, по возможности, избегать использования хлорангидридного метода; к сожалению, до настоящего времени имеется очень мало данных о возможности перегруппировок в случае других методов конденсации. Баттерсби и Робинсоном [893] было показано также, что аналогичные перегруппировки могут иметь место и в процессе щелочной деградации продуктов конденсации. Такая возможность вытекает из того факта, что любой из структурных изомеров, CLXXI или CLXXII, может быть превращен в один и тот же имид (CLXXIII), который в свою очередь может претерпевать гидролитическое расщепление в двух возможных направлениях с образованием смеси изомерных продуктов реакции (CLXXIV и CLXXV). Поэтому, если возможно, следует использовать в синтезе бензиловые эфиры, способные расщепляться каталитическим гидрогенолизом.



в) Синтезы с использованием моноазидов глутаминовой кислоты. Третья возможность синтеза производных, в которых или α-, или γ-карбоксильная группа глутаминовой кислоты соединена пептидной связью с другим аминокислотным остатком, была показана в работах, проведенных в течение 1948—1950 гг. Хегедюшом [606] и независимо Ле Квесном и Янгом [691]. Этот метод заключается в использовании ацилированной глутаминовой кислоты, в которой одна карбоксильная группа остается свободной, а другая превращена в гидразид. Получение α- и γ-гидразидов карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (CLXXVII и CLXXXI) может быть легко осуществлено обработкой соответствующего метилового или этилового эфира (CLXXVI и CLXXX; $R^1 = CH_3$ или C_2H_5) гидразином (методика 146) [606, 691, 692]. Для проведения конденсации соответствующий полугидразид (CLXXVII или CLXXXI) вначале превращается в соответствующий азид (CLXXVIII или CLXXXII) путем обработки азотистой кислотой и затем вводится в реакцию с подходящим амином (см. методику 61). Хотя этот метод был впервые успешно использован Хегедюшом [606] в синтезе глутатиона и затем применялся другими исследователями [605, 606, 679, 691—693], требуемые α- или γ-глутамилпроизводные (CLXXIX и CLXXXIII) не всегда удается выделить в кристаллическом состоянии. Как показано Заксом и Брандом [724], при реакциях конденсации с участием γ-азида карбобензоксиглутаминовой кислоты часто может получаться смесь α- и γ-глутамилпроизводных; механизм такой перегруппировки был обсужден ранее (раздел 26) и приводить его здесь представляется нецелесообразным. Следует отметить, однако, что указанные трудности встречаются не всегда, хотя точные условия, при которых реакция протекает с образованием одного изомера или смеси α- и γ-производных, до настоящего времени не выяснены.

Модификация указанного выше метода, которая может привести к более однозначным результатам, заключается в превращении свободной карбоксильной группы полугидразида (CLXXVII или CLXXXI) в соответствующий сложный эфир перед обработкой азотистой кислотой. Этот путь был



успешно использован Шормом и Рудингером [894], которые при взаимодействии γ-азида α-метилового эфира карбобензокси-L-глутаминовой кислоты с этиловыми эфирами глицина или тирозина получили соответствующие пептиды.

Типичная методика 146 [692]. γ-Гидразид карбобензокси-L-глутаминовой кислоты. Вначале получают γ-этиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты следующим образом [367]. К смеси 40 *г* γ-этилового эфира L-глутаминовой кислоты (методика 50) и 40 *г* бикарбоната натрия в 600 *мл* воды, охлажденной в бане со льдом, добавляют 40 *мл* карбобензоксихлорида (методика 27). Реакционную смесь перемешивают при температуре от 0 до —5° в течение 3 *час* и затем еще 2 *час* при комнатной температуре, промывают эфиром и водный слой подкисляют соляной кислотой. Смесь экстрагируют эфиром, эфирный экстракт выпаривают досуха и остаток дважды перекристаллизовывают из четыреххлористого углерода; выход 47 *г*, т. пл. 87°. К 35 *г* полученного γ-этилового эфира карбобензокси-L-глутаминовой кислоты добавляют 35 *мл* 85%-ного гидразингидрата и смесь нагревают на паровой бане в течение 15 *мин*. К реакционной смеси добавляют 700 *мл* ледяной воды, раствор подкисляют до pH 1 6 н. соляной кислотой и затем путем добавления 10 н. раствора едкого натра pH раствора быстро доводят до значения 3,8. При этом сразу начинает кристаллизоваться гидразид, который после выдерживания в течение 4 *час* при 4° отфильтровывают и перекристаллизовывают из минимального количества кипящей воды; выход 26 *г*, т. пл. 177—178°.

40. Физические константы эфиров ацилированных пептидов. Описанные выше методы конденсации (разделы 26—39) были использованы для получения сотен эфиров ацилпептидов самых различных типов. В табл. 93 (стр. 590) приведены температуры плавления и значения оптического вращения большинства метиловых, этиловых и бензиловых эфиров N-ацилпептидов, содержащих селективно удаляемые N-ацильные защитные группы (разделы 13—21), которые были описаны вплоть до конца 1958 г. Приведенный в таблице перечень ни в коей мере нельзя рассматривать как полный,

Эфиры ацилированных пептидов

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °C	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
N-Бензильные производные (Bz)						
N-Bz-Asp-Gly-OEt	DL	146	—	—	—	555
N-Bz-Asp-OH	DL	140 [a]	—	—	—	*555*, 558
└— Gly-OEt						
N-Bz-Asp-β-Ala-OEt	DL	140	—	—	—	895
N,N-diBz-(α-NH_2-*n*-But)-Gly-OEt	DL	140	—	—	—	552
N,N-diBz-Gly-Glu$(OEt)_2$	L	120—122	—	—	—	552
N,N-diBz-Gly_2-OEt	—	160—161	—	—	—	552
N,N-diBz-Gly-Ser-OEt	DL	160	—	—	—	552
N,N-diBz-Gly-Try-OMe	DL	120	—	—	—	552
N,N-diBz-Gly-Val-OEt	DL	140—145	—	—	—	552
Бензилсульфонильные производные ($BzSO_2$)						
$BzSO_2$-Leu_2-OEt	L-L	122—123	—48,7	27	3,3%, EtOH	601
Бензилтиокарбонильные производные (BzTC)						
BzTC-Ala-Gly-OEt	DL	120—121	—	—	—	580
BzTC-Ala-Gly-OEt	L	105—106	—	—	—	580
BzTC-Gly_2-OEt	—	119—120	—	—	—	580
BzTC-Gly-Phe-OEt	DL	108—109	—	—	—	580
Карбобензоксипроизводные (Cbzo)						
Cbzo-Ala_2-OBz	L-L	138	—	—	—	666
Cbzo-Ala_2-OEt	D-D	116	—	—	—	666
Cbzo-Ala_2-OEt	D-L	92	—	—	—	666
Cbzo-Ala_2-OEt	L-D	92	—	—	—	666
Cbzo-Ala_2-OEt	L-L	116	—	—	—	*666*, 896
Cbzo-Ala_3-OBz	3D	201,5	—	—	—	703
Cbzo-Ala_3-OBz	D-L-L	173	—	—	—	703
Cbzo-Ala_3-OBz	L-D-L	148—149	—	—	—	703
Cbzo-Ala_3-OBz	L-L-D	180,5	—	—	—	703
Cbzo-Ala_3-OBz	3L	201,5	—	—	—	703
Cbzo-Ala_3-OEt	L-D-L	142	—	—	—	703
Cbzo-Ala_3-OEt	L-L-D	176	—	—	—	703
Cbzo-Ala_3-OEt	3L	192	—	—	—	703
Cbzo-Ala_4-OBz	D-3L	191—192	—	—	—	897
Cbzo-Ala_4-OBz	L-D-2L	181,5	—	—	—	897
Cbzo-Ala_4-OBz	2L-D-L	213—214	—	—	—	897
Cbzo-Ala_4-OBz	4L	246	—	—	—	897
Cbzo-Ala_5-OBz	5L	254	—	—	—	897
Cbzo-Ala_6-OBz	6L	> 260 (с разл.)	—	—	—	897
Cbzo-Ala-(α-NH_2-*n*-But)-OEt	L-L	77	—	—	—	468
Cbzo-Ala-Glu(NH_2)-OMe	L-L	154—156	—	—	—	619
Cbzo-Ala-Glu-OBz	D-L	132—135	+4,8	24	1,7%, HOAc	891
Cbzo-Ala-Glu-OBz	L-L	147—149	—21,2	24	1,6%, HOAc	891
Cbzo-Ala-Glu-$(OBz)_2$	D-L	112—113	+3,8	23	2%, HOAc	898
Cbzo-Ala-Glu-$(OBz)_2$	L-D	112—113	—3,7	23	2%, HOAc	898
Cbzo-Ala-Glu-$(OBz)_2$	L-L	104—105	—16,6	23	2%, HOAc	898
Cbzo-Ala-Glu-OBz	D-L	169—171	+19,7	24	2%, HOAc	891
└— Ala-OBz	D					
Cbzo-Ala-Glu-OBz	D-L	156—158	—7,9	24	2%, HOAc	891
└— Ala-OBz	L					
Cbzo-Ala-Glu-OBz	L-L	148—150	+4,0	23	2%, HOAc	891
└— Ala-OBz	D					
Cbzo-Ala-Glu-OBz	L-L	150—151	—28,8	23	2%, HOAc	891
└— Ala-OBz	L					
Cbzo-Ala-Gly-OBz	D	112	—	—	—	666
Cbzo-Ala-Gly-OBz	L	111	—	—	—	666
Cbzo-Ala-Gly-OEt	DL	81	—	—	—	*723*, 740, 769, 769a, *774*
Cbzo-Ala-Gly-OEt	D	98	—	—	—	466
Cbzo-Ala-Gly-OEt	L	97,5—98	—24,4	20	1,0%, EtOH	466, 613a, 666, *808b*

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-β-Ala-Gly-OEt	—	95—96	—	—	—	899
Cbzo-Ala-Gly-OMe	DL	74—76	—	—	—	900
Cbzo-Ala-Gly-Ala-Gly-OBz	D-D	204—205	+20,3	25	1%, MeOH	704
Cbzo-Ala-Gly-Ala-Gly-OBz	L-L	202—204	—20,5	25	1%, MeOH	704
Cbzo-Ala-Gly_2-OBz	D	116	—	—	—	705
Cbzo-Ala-Gly_2-OBz	L	114—116	—	—	—	705
Cbzo-Ala-Gly_2-OEt	DL	113	—	—	—	769a
Cbzo-Ala-Gly-Val-CySBz-OBz	3L	186—187	—53,8	20	1%, HOAc	875в
Cbzo-β-Ala-His-Gly-OEt	L	154—156	—	—	—	621
Cbzo-β-Ala-His_2-OMe	L-L	160—161	—	—	—	621
Cbzo-Ala-Leu-OMe	D-L	72—73	—9	27	1%, EtOH	467
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OMe	D-L	130	—	—	—	667
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OMe	L-D	128	—	—	—	667
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OMe	L-L	90	—	—	—	667
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Ala-OBz	L-2D	173—174	—	—	—	706
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Ala-OBz	L-D-L	160—161	—	—	—	706
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Ala-OBz	3L	183—184	—	—	—	706
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Ala-OEt	3L	191—192	—	—	—	706
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Ala_2-OBz	L-D-2L	166—167	—	—	—	901
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Ala_2-OBz	4L	198	—	—	—	901
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Ala_3-OBz	L-D-3L	213—214	—	—	—	901
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Ala_3-OBz	5L	238—239	—	—	—	901
Cbzo-Ala-Gly-Phe-OEt	L-L	123—124	—	—	—	902
Cbzo-Ala-Nval-OEt	D-L	90	—	—	—	468
Cbzo-Ala-Nval-OEt	L-L	108	—	—	—	468
Cbzo-Ala-Phe-OEt	L-L	97—98	—	—	—	808б, *903*
Cbzo-β-Ala-Phe-OEt	DL	88—89	—	—	—	899
Cbzo-Ala-Ser-OMe	L-L	134—135	—	—	—	432a, *631*
Cbzo-Ala-Ser-Val-CySBz-OBz	4L	187—188	—	—	—	432a
Cbzo-Ala-Tyr-OEt	D-L	105—107	—	—	—	660
Cbzo-Ala-Tyr-OEt	L-L	138—139	—	—	—	903
Cbzo-Ala-(O-Ac-Tyr)-Gly-OEt	L-L	178—178,5	—	—	—	495
Cbzo-(α-NH_2-*n*-But)-Gly-OEt	L	114	—25	16	2,7%, EtOH	58
Cbzo-(α-NH_2-*n*-But)-Phe-OEt	L-L	94—95	—	—	—	660
α,ω,ω-triCbzo-Arg-Ala-OBz	L-L	171—172	—	—	—	904
Cbzo-NO_2-Arg-Ala-OBz	L-L	163—164	—23,5	26	2%, HOAc	845
Cbzo-NO_2-Arg-β-Ala-OBz	L	142—143	—9,2	26	2%, HOAc	845
Cbzo-NO_2-Arg-Ala-OMe	L-L	157—159	—18,8	25	1%, MeOH	491
α,ω,ω-triCbzo-Arg-(ω-Cbzo-Arg)-OBz	L-L	162—164	—	—	—	459, 850, *904*
α,ω,ω-triCbzo-Arg-(ω-Cbzo-Arg)-OMe	L-L	135	—	—	—	459
α,ω,ω-triCbzo-Arg-$Asp(OBz)_2$	L-L	159—160	—	—	—	904
Cbzo-NO_2-Arg-$Asp(OBz)_2$	L-L	114—115	+2,0	20	2%, HOAc	845
Cbzo-NO_2-Arg-$Asp(OEt)_2$	L-L	122—123	—3,8	19	2%, ацетон	845
Cbzo-NO_2-Arg-$Glu(OBz)_2$	L-L	107—109	—11,0	26	2%, HOAc	845
α,ω,ω,-triCbzo-Arg-$Glu(OBz)_2$	L-L	120—121	—	—	—	459
Cbzo-NO_2-Arg-$Glu(OEt)_2$	L-L	110—111	—7,5	19	2%, ацетон	491, 541, *845*
α,ω,ω-triCbzo-Arg-Gly-OBz	L	118—120	—	—	—	904
Cbzo-NO_2-Arg-Gly-OBz	L	152—154	—13,9	25	1%, MeOH	541, *678*
Cbzo-NO_2-Arg-Gly-OEt	L	124—126	—	—	—	541
Cbzo-NO_2-Arg-Gly-OMe	L	70—73	—13,8	29	3,6%, MeOH	491
α,ω,ω-triCbzo-Arg-allo-Ileu-OBz	L-D	128—130	—	—	—	904
α,ω,ω-triCbzo-Arg-Ileu-OBz	L-L	147—150	—	—	—	904
α,ω,ω-triCbzo-Arg-Leu-OBz	L-L	158—160	—	—	—	904
Cbzo-NO_2-Arg-Leu-OBz	L-L	154—155	—22,1	26	2%, HOAc	845
Cbzo-NO_2-Arg-Leu-OMe	L-L	162—163,4	—23,4	30	1%, MeOH	*491*, 541
Cbzo-Arg-Leu-OMe·HBr·H_2O	L-L	90—92	—20,3	23	2%, MeOH	471
Cbzo-Arg-Leu-OMe·HCl	L-L	92—94	—21,6	25	2%, MeOH	758
α,ω,ω-triCbzo-Arg-Phe-OBz	L-L	168—170	—	—	—	904
Cbzo-NO_2-Arg-Phe-OEt	L-L	141—143	—	—	—	541
Cbzo-NO_2-Arg-Phe-OMe	L-L	132—133	—8,2	25	1,2%, MeOH	491
Cbzo-Arg-Try-OMe·HCl	L-L	140—150 (с разл.)	+5,8	23	2,0%, MeOH	471a

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-NO_2-Arg-Try-OMe	L-L	83—85	—0,5	29	1,5%, MeOH	491
α,ω,ω-triCbzo-Arg-Tyr-OBz	L-L	166—168	—	—	—	904
Cbzo-NO_2-Arg-Tyr-OBz	L-L	41—43	—4,9	20	2%, HOAc	845
Cbzo-NO_2-Arg-Tyr-OEt	L-L	139—141	—	—	—	541
Cbzo-NO_2-Arg-Tyr-OMe	L-L	159—160	—3,6	28	1,2%, MeOH	491
α,ω,ω,-triCbzo-Arg-Val-OBz	L-L	129—131,5			—	904
Cbzo-Asp(NH_2)-NO_2-Arg-OMe	L-L	170—173	+5	24	2%, HOAc	714
Cbzo-Asp(NH_2)-NO_2-Arg-Val-Tyr-OMe	4L	202—206	—4	23	0,9%, диметилформамид	714
Cbzo-Asp(NH_2)-NO_2-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OMe	8L	190—205	—29	23	0,5%, диметилформамид	714
Cbzo-Asp(NH_2)-NO_2-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-His-Leu-OMe	10L	180—195 (с разл.)	—55	—	0,7%, MeOH (0,01 н. в HCl)	638a
Cbzo-Asp(NH_2)-NO_2-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OMe	8L	205—210 (с разл.)	—27	—	— диметилформамид	718a
Cbzo-Asp(NH_2)-CySBz-OBz	L-L	185—187	—	—	—	674
Cbzo-Asp(NH_2)-CySBz-OEt	L-L	188—190	—	—	—	674
Cbzo-Asp(NH_2)-CySBz-OMe	L-L	196	—31,9	19	2,4% пиридин	*472*, 482a, 791a, 868, 906
Cbzo-Asp(NH_2)-Gly-OBz	L	181—183	—	—	—	482
Cbzo-Asp(NH_2)-Gly-OEt	L	184—185	—	—	—	674
Cbzo-Asp(NH_2)-Leu-OBz	L-L	154	—	—	—	672
Cbzo-Asp(NH_2)-Ser-OMe	L-L	139—140	—	—	—	907
Cbzo-Asp(NH_2)-Ser-Gly-OEt	L-L	139—140	—	—	—	907
Cbzo-Asp-OBz	L	102	—	—	—	908
└— Ala-OMe	L					
Cbzo-Asp(OMe)-NO_2-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OMe	8L	188—192	—32,5	25	0,5%, диметилформамид	508
Cbzo-Asp-OBz	L	160	—	—	—	474
└— CyS-OEt	L					
┌— CyS-OEt	L					
Cbzo-Asp-OBz	L					
Cbzo-Asp-CySBz-OEt	L-L	114—116	—	—	—	674
Cbzo-Asp-OH	L	146—147	—	—	—	674
└— CySBz-OEt	L					
Cbzo-Asp-Glu-$(OEt)_2 \cdot H_2O$	L-L	82—84	—	—	—	609
Cbzo-Asp-OBz	L	153	—	—	—	727
└— CySBz-Gly-OMe	L					
Cbzo-Asp-OH·H_2O	L	71—73	—	—	—	609
└— Glu-$(OEt)_2$	L					
Cbzo-Asp-Gly-$(OBz)_2$	L	98	—	—	—	672
Cbzo-Asp-OBz	L	101	—	—	—	726
└— Gly-OEt						
Cbzo-Asp-Gly-OBz	L	164	—	—	—	726
└— Gly-OBz						
Cbzo-Asp-Gly-OEt	L	120—122 б	—	—	—	*609*, 726, 878
Cbzo-Asp-OH	L	122—124	—	—	—	609
└— Gly-OEt						
Cbzo-Asp-His-OMe	L-L	95—105 (с разл.)	—	—	—	838
Cbzo-Asp(OBz)-(N^{α}-Tos-Lys)-OBz	L-L	120—122	—	—	—	439a
Cbzo-Asp-Ser-Gly-Glu$(OEt)_2$	3L	182	—	—	—	907
Cbzo-Asp-Tyr-OEt	L-L	142—144	—	—	—	609
Cbzo-Asp-OH	L	203	—	—	—	128
└— Tyr-OEt	L					

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Asp(OMe)-OH	L	136	—	—	—	378
└— Tyr-OMe	L					
Cbzo-Asp-OBz	L	128	—	—	—	378
└— Tyr-OEt	L					
Cbzo-Asp-OH	L	200—201	—	—	—	609
└— Tyr-OEt	L					
Cbzo-Asp-Val-OMe	L-L	102—104	−8,4	19	2,3%, H_2O+ +1 экв. NaOH	880
Cbzo-Asp-OH	L	163—164,5	−13,3	19	2,2%, H_2O+ +1 экв. NaOH	880
└— Val-OMe	L					
Cbzo-CyS-Asp-$(OEt)_2$	L-L	145	—	—	—	189
Cbzo-CyS-Asp-$(OEt)_2$	L-L					
Cbzo-CyS-CySH-OEt	L-L	72—76	—	—	—	189
Cbzo-CyS-CySH-OEt	L-L					
Cbzo-CyS-Glu-$(OEt)_2$	L-L	145	—	—	—	189
Cbzo-CyS-Glu-$(OEt)_2$	L-L					
Cbzo-CyS-Glu-$(OMe)_2$	L-L	139	—	—	—	189
Cbzo-CyS-Glu-$(OMe)_2$	L-L					
Cbzo-CyS-Gly-OEt	L	166	—	—	—	10, *128*, 477, 495
Cbzo-CyS-Gly-OEt	L					
Cbzo-CyS-Gly-OBz	L	167—168	—	—	—	474
Cbzo-CyS-Gly-OBz	L					
Cbzo-CyS-Tyr-OEt	L-L	168—175	—	—	—	189
Cbzo-CyS-Tyr-OEt	L-L					
Cbzo-CySBz-Ala-OEt	L-L	117,5	—	—	—	432a
Cbzo-CySBz-Ala-OMe	L-L	128,5—129	—	—	—	432a
Cbzo-CySBz-Ala-Ser-OMe	3L	195—196	—	—	—	432a
Cbzo-CySBz-Ala-Ser-Val-CySBz-OBz	5L	200—202	—	—	—	432a
Cbzo-$(CySBz)_2$-OBz	L-D	128—129	+2,5	24	1%, ацетон	390
Cbzo-$(CySBz)_2$-OBz	L-L	129—130	−45,0	21	1% »	390
Cbzo-$(CySBz)_2$-OEt	D-L	103	−4,9	26	2% »	473
Cbzo-$(CySBz)_2$-OEt	L-D	103	+5,1	26	2% »	473
Cbzo-$(CySBz)_2$-OEt	L-L	105	−55,3	26	2% »	390, *473*
Cbzo-$(CySBz)_2$-OMe	L-L	140	—	—	—	432a
Cbzo-CySBz-Gly-OEt	L	98—99	−26,8	20	6%, HOAc	390, 432a, *475*, 759a, 769
Cbzo-CySBz-Gly-OBz	L	127—128	−28,3	19	1%, ацетон	432a
Cbzo-CySBz-Gly-CySBz-OBz	L-L	161	−34,7	20	2,6%, диоксан	390
Cbzo-CySBz-Gly-CySBz-OEt	L-L	125—126	—	—	—	390
Cbzo-CySBz-Gly_2-OEt	L	114—115	−12,9	20	3,2%, EtOH	390
Cbzo-CySBz-Gly_2-OMe	L	110	—	—	—	390
Cbzo-CySBz-Gly_2-CySBz-OBz	L-L	175	−29,6	20	2,7%, пиридин	390
Cbzo-CySBz-Gly_2-GySBz-OEt	L-L	135	—	—	—	390
Cbzo-CySBz-Gly_3-OEt	L	122—123	−2,2	20	4,6%, диоксан	390
Cbzo-CySBz-Gly_3-CySBz-OBz	L-L	157—158	−30,6	20	2,9%, диоксан	390
Cbzo-CySBz-Gly_4-CySBz-OBz	L-L	205—206	−29,7	20	1,1%, пиридин	390, 711
Cbzo-CySBz-Gly_5-OBz	L	207	—	—	—	390
Cbzo-CySBz-Gly_5-OEt	L	198—199	—	—	—	390
Cbzo-CySBz-Gly_5-CySBz-OBz	L-L	224—226	−27,2	22	1%, HOAc	472
Cbzo-CySBz-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-Gly-OEt	3L	106—109	−26,0	21.5	3%, $CHCl_3$	393
Cbzo-CySBz-(O-Bzo-Tyr)-OEt	L-L	164—166	+26,0	23	4,4%, $CHCl_3$	646, *804*
Cbzo-CySBz-Tyr-OEt	L-L	103—104	+26,0	22	3,4%, $CHCl_3$	804
Cbzo-CySBz-(O-Bz-Tyr)-OMe	L-L	150,5	—	—	—	830
Cbzo-CySBz-Tyr-OMe	L-L	89	—	—	—	472
Cbzo-CySBz-Tyr-Ileu-OEt	3L	141—142	−18	21	4%, HOAc	*707*, 804

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-CySBz-Tyr-Ileu-OMe	3L	159,5—160в	—34,8	23	1,5%, MeOH	472, *623*
Cbzo-CySBz-Tyr-Leu-OMe	3L	128	—39,4	20	2,9%, MeOH	629
Cbzo-CySBz-Tyr-Phe-OMe	3L	154	—33,7	19	1,5%, MeOH	629
Cbzo-CySBz-Tyr-Val-OMe	3L	132	—36,4	19	2,9%, MeOH	*629*, 708
Cbzo-Glu-Ala-OBz	L-D	148—151	+8,8	23	1,3%, HOAc	891
Cbzo-Glu(OBz)-Ala-OBz	L-D	120—121	+2,6	23	2%, HOAc	898
Cbzo-Glu-OBz	L	124—125	+14,7	25	2%, HOAc	898
└— Ala-OBz	D					
Cbzo-Glu-Ala-OBz	L-L	153—154	—25,8	—25	1,1%, HOAc	891
Cbzo-Glu(OBz)-Ala-OBz	L-L	102—104	—21,2	23	2%, HOAc	898
Cbzo-Glu-OBz	L	124—126	—16,2	26	2%, HOAc	898
└— Ala-OBz	L					
Cbzo-Glu-OH	L	82—85	—	—	—	692
└— Ala-OBz	L					
Cbzo-Glu-OH	L	112—113	—	—	—	605
└— Ala-OEt	L					
Cbzo-Glu-Ala-OEt	L-L	149—150	—	—	—	881
Cbzo-Glu(NH_2)-Ala-OEt	L-L	195—197	—	—	—	619
Cbzo-Glu-Ala-OBz	L-D	169—170	+23,3	23	2%, HOAc	891
└— Ala-OBz	D					
Cbzo-Glu-Ala-OBz	L-D	189—190	—5,9	23	2%, HOAc	891
└— Ala-OBz	L					
Cbzo-Glu-Ala-OBz	L-L	186—187	+3,3	23	2%, HOAc	91
└— Ala-OBz	D					
Cbzo-Glu-Ala-OBz	L-L	200—201	—37,8	28	2%, HOAc	891
└— Ala-OBz	L					
Cbzo-Glu-Ala-OBz	L-D	182—183	+11,6	23	2%, HOAc	891
└— Gly-OBz						
Cbzo-Glu-Ala-OBz	L-L	182—183	—15,7	23	2%, HOAc	891
└— Gly-OBz						
Cbzo-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-OMe	3L	239	—38,6	20	2,4%, HOAc	*472*, 482a, 868,
Cbzo-Glu-Asp-$(OEt)_2$	L-L	118—120	—	—	—	610
Cbzo-Glu-CySH-OBz	L-L	148	—	—	—	474
Cbzo-Glu-CySBz-OBz	L-L	144	—	—	—	474
Cbzo-Glu(NH_2)-CySBz-OBz	L-L	187—190	—	—	—	*432a*, 474
Cbzo-Glu-OMe	L	97	—	—	—	10
└— CySH-OEt	L					
Cbzo-Glu(OEt)-CySBz-OMe	L-L	130	—	—	—	767
Cbzo-Glu(NH_2)-CySBz-OMe	L-L	204	—30,3	19	2,4%, HOAc	428a, *629*, 906
Cbzo-Glu(NH_2)-$(CySBz)_2$-OEt	3L	181—185	—	—	—	432a
Cbzo-Glu-OH	L	173	—	—	—	10
└— CySH-Gly-OEt	L					
Cbzo-Glu(OEt)-CySBz-Gly-OEt	L-L	125—127	—	—	—	767
Cbzo-Glu-OEt	L	105—107	—	—	—	475
└— CySBz-Gly-OEt	L					
Cbzo-Glu-OH	L	102—105	—	—	—	692
└— Clu$(OBz)_2$	L					
Cbzo-Glu-OBz	L	129,5—131	+3,3	23	2%, HOAc	898
└— Glu-$(OBz)_2$	D					
Cbzo-Glu-OBz	L	140,5—142	—5,2	23	2%, HOAc	898
└— Glu-$(OBz)_2$	L					
Cbzo-Glu(OBz)-Glu-$(OBz)_2$	L-L	104—105	—10,4	23	2%, HOAc	898

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Glu-OBz	L	148—151	—6,5	24	1,4%, HOAc	891
└— Glu-OBz	L					
Cbzo-Glu-OH	D	177	+18,1	20	2,7%, MeOH	679
└— Glu-OBz	D					
Cbzo-Glu-OH	L	177—178	—18.0	20	4,8%, MeOH	679
└— Glu-OBz	L					
Cbzo-Glu-OMe	D	104—106	+30,0	20	2,5%, MeOH	679
└— Glu(OMe)-OBz	D					
Cbzo-Glu-OMe	L	105—106	—30,0	20	5,0%, MeOH	679
└— Glu(OMe)-OBz	L					
Cbzo-Glu-Glu-$(OEt)_2$	L-L	137	—	—	—	*128*, 610, 691
Cbzo-Glu-OH	L	62—68	—	—	—	691
└— Glu-$(OEt)_2$	L					
Cbzo-Glu-OEt	L	92—93	—22,7	15	1,15%, EtOH	*767*, 909
└— Glu-$(OEt)_2$	L					
Cbzo-Glu(OEt)-Glu-$(OEt)_2$	L-L	104—105	—35,0	15	1,47%, EtOH	*767*, 879
Cbzo-Glu(NH_2)-Glu-$(OEt)_2$	L-L	181	—	—	—	767, *882*
Cbzo-Glu(OMe)-Glu-$(OEt)_2$	L-L	81—82	—11,8	25	2,2%, HOAc	677
Cbzo-Glu(NH_2)-Glu(NH_2)-CySBz-OMe	3L	255	—41,8	19	2,4%, HOAc	629
Cbzo-Glu-OBz	L	147—149	—5,3	28	2%, HOAc	891
└— Glu-OBz	L					
└— Glu-$(OBz)_2$	L					
Cbzo-Glu-Glu(OEt)-Glu-$(OEt)_2$	3L	146	—	—	—	879
Cbzo-Glu-Glu(OMe)-Glu-$(OEt)_2$	3L	147—148	—33,3	18	1,5%, EtOH	881
Cbzo-Glu(OEt)-Glu(OEt)-Glu-$(OEt)_2$	3L	114—116	—	—	—	767
Cbzo-Glu-OEt	L	113—114	—	—	—	*767*, 909
└— Glu-OEt	L					
└— Glu-$(OEt)_2$	L					
Cbzo-Glu(OEt)-Glu(OEt)-Glu-$(OEt)_2$	3L	128	—	—	—	879
Cbzo-Glu-OEt	L	168—169,5	—	—	—	767
└— Glu-OEt	L					
└— Glu-OEt	L					
└— Glu-$(OEt)_2$	L					
Cbzo-Glu(OEt)-Glu(OEt)-Gly-OEt	L-L	143—144	—	—	—	767
Cbzo-Glu(OMe)-Glu(OMe)-Gly-OEt	L-L	140—141	—20,6	25	2,2%, HOAc	677
Cbzo-Glu-OBz	L	104—105	—	—	—	474
│ Gly-OBz	L	94—95	—	—	—	692
Cbzo-Glu-OH						
└— Gly-OBz	L	112—113	—	—	—	482
Cbzo-Glu(OEt)-Gly-OBz	L	127	—	—	—	691, 726, *878*, 882
Cbzo-Glu-Gly-OEt	L	167 г	—	—	—	767, *882*
Cbzo-Glu(NH_2)-Gly-OEt	L	107—109	—	—	—	691, *693*
Cbzo-Glu-OH						
└— Gly-OEt	L	94—94,5	—11,4	22	4,4%, HOAc	767
Cbzo-Clu(OEt)-Gly-OEt	L	89—90	—	—	—	894
Cbzo-Glu-OMe						
└— Gly-OEt	L	94	—14,4	19	2,9%, HOAc	677
Cbzo-Glu(OMe)-Gly-OEt	L-L	121	—10,5	22	3,4%, 96% EtOH	677
Cbzo-Glu(OEt)-Gly-Glu-$(OEt)_2$	L-L	94	—10,0	23	4,2%, 96% EtOH	677
Cbzo-Glu(OMe)-Gly-Glu-$(OEt)_2$	L	139—140	—	—	—	*455*, 610, 882
Cbzo-Glu-Gly_2-OEt	L	172—180 д	—	—	—	*619*, 882
Cbzo-Glu(NH_2)-Gly_2-OEt						

Соединение	Конфигурация	Т пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Glu-OH	L	92—94	—	—	—	691
└— Gly_2-OEt						
Cbzo-Glu(OEt)-Gly_2-OEt	L	112—114	—	—	—	767
Cbzo-Glu-OEt	L	104—105	—	—	—	767
└— Gly_2-OEt						
Cbzo-Glu-Gly-OEt	L	153	—27,8	20	1,6%, ацетон	774
└— Gly-OEt						
Cbzo-Glu-OH	L	112—115	—	—	—	692
└— Leu-OBz	L					
Cbzo-Glu-Leu-OEt	L-L	94—96	—	—	—	610
Cbzo-Glu(NH_2)-Leu-OMe	L-L	163—164	—	—	—	619
Cbzo-Glu-Met-OMe	L-L	114—115	—	—	—	627
Cbzo-Glu-Phe-OEt	L-D	131	—	—	—	709
Cbzo-Glu-Phe-OEt	L-L	144	—	—	—	709
Cbzo-Glu(NH_2)-Phe-OEt	L-L	138	—	—	—	709
Cbzo-Glu(NH_2)-Ser-OMe	L-L	182—185	—	—	—	619
Cbzo-Glu-Tyr-OEt	L-L	176	—	—	—	*378*, 894
Cbzo-Glu-OH	L	172—176	—	—	—	691
└— Tyr-OEt	L					
Cbzo-Glu(NH_2)-Tyr-OMe	L-L	198—201	—	—	—	619
Cbzo-Glu-Tyr-Gly-OEt	L-L	193—194	—	—	—	709
Cbzo-Glu-Val-OEt	L-L	122—124	—	—	—	610
Cbzo-Glu(NH_2)-Val-OMe	L-L	173—175	—	—	—	619
Cbzo-Gly-Ala-OBz	DL	91—92	—	—	—	769
Cbzo-Gly-Ala-OEt	DL	53—55	—	—	—	*704*, 774
Cbzo-Gly-Ala-OEt	D	66	—	—	—	666
Cbzo-Gly-Ala-OEt	L	65	—	—	—	*666*, 710
Cbzo-Gly-β-Ala-OEt	—	63	—	—	—	*723*, 899
Cbzo-Gly-Ala_2-OEt	L-D	126	—	—	—	703
Cbzo-Gly-Ala_2-OEt	L-L	128	—	—	—	703
Cbzo-Gly-Ala-Gly-OBz	DL	165—166	—	—	—	704
Cbzo-Gly-Ala-Gly-OBz	D	144	—	—	—	703
Cbzo-Gly-Ala-Gly-OBz	L	144—145	—27,5	25	2%, MeOH	703, *717a*
Cbzo-Gly-Ala-Gly-OEt	DL	179	—	—	—	774
Cbzo-Gly-Ala-Gly-OEt	L	145	—	—	—	703
Cbzo-Gly-$Ala-Gly_2$-OMe	DL	144—145	—	—	—	803
Cbzo-Gly-β-Ala-His-OMe	L	168—169	—	—	—	621
Cbzo-Gly-Ala-Leu-OMe	L-L	111,5—113,5	—	—	—	*494*, 710
Cbzo-Gly-Ala-Leu-Glu-$(OMe)_2$	3L	149	—	—	—	710
Cbzo-Gly-(α-NH_2-*n*-But)-OEt	DL	46	—	—	—	774
Cbzo-Gly-(α-NH_2-*iso*-But)-OEt	—	84	—	—	—	466
Cbzo-Gly-NO_2-Arg-OEt	L	112—114	—6,9	25	1,7%, MeOH	678
Cbzo-Gly-Asp-$(OBz)_2$	L	85—86	—	—	—	672
Cbzo-Gly-Asp-Gly-OEt	L	148	—	—	—	878
Cbzo-Gly-CySBz-OBz	L	97	—22,0	20	0,18%, EtOH	390
Cbzo-Gly-CySBz-OEt	L	80	—45,9	20	—, MeOH	774
Cbzo-Gly-CySBz-OEt	L	80	—34,5	19	0,43%, EtOH	*390*, 759a
Cbzo-Gly-Glu-$(OEt)_2$	L	53—55	—11,9	20	2,5%, 96% EtOH	677
Cbzo-Gly-Glu-Gly-OEt	L	169	—	—	—	878
Cbzo-Gly-Glu(OEt)-Gly_2-OEt	L	172—173	—	—	—	767
Cbzo-Gly-Glu(OEt)-Tyr-OEt	L-L	169	—	—	—	709
Cbzo-Gly_2-OBz	—	110	—	—	—	665
Cbzo-Gly_2-OEt	—	80—81	—	—	—	495, 697, 722, 723, 758, 759, 759a, 768, *769*, 769a, 774, 808, 769, *900*
Cbzo-Gly_2-OMe	—	63—65	—	—	—	899
Cbzo-Gly_2-β-Ala-OEt	—	142	—	—	—	910
Cbzo-Gly_2-Ala-OMe	DL	97	—	—	—	910
Cbzo-Gly_2-Ala-Gly-OMe	DL	166	—	—	—	

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Gly$_2$-Ala-Gly$_2$-OMe	DL	200	—	—	—	910
Cbzo-Gly$_2$-CySBz-OBz	L	115,5—116[с]	—32,3	21	1%, EtOH	390, *711*
Cbzo-Gly$_3$-OBz	—	162[ж]	—	—	—	390, 665
Cbzo-Gly$_3$-OEt	—	166—167	—	—	—	697, 711, 723, 757, 759a, 768, 769a, 774, *832*, 911
Cbzo-Gly$_3$-OMe	—	151—155	—	—	—	413
Cbzo-Gly$_3$-CySBz-OBz	L	150—151	—18,0	22	1%, диоксан	711
Cbzo-Gly$_4$-OEt	—	205[з]	—	—	—	*723*, 774
Cbzo-Gly$_4$-OMe	—	214,5	—	—	—	806
Cbzo-Gly$_4$-CySBz-OBz	L	217—218,5	—24,5	23	1%, HOAc	472
di(Cbzo-Gly)-His-OMe	L	146—147 (с разл.)	—	—	—	840
Cbzo-Gly$_2$-Hypro-OBz	L	123—127	—	—	—	169
Cbzo-Gly$_2$-Leu-OMe	D	95—96	—	—	—	911
Cbzo-Gly$_2$-Leu-OMe	L	93—94	—	—	—	911
Cbzo-Gly$_2$-Phe-OEt	DL	78—80	—	—	—	758
Cbzo-Gly$_2$-Phe-OEt·H_2O	DL	105	—	—	—	761, *812б*
Cbzo-Gly$_2$-Phe-OEt	L	73—74	—	—	—	902
Cbzo-Gly$_2$-Pro-OBz	L	87	—	—	—	169
Cbzo-Gly-His-Gly-OEt	L	172—173	—	—	—	537
Cbzo-Gly-His-Gly-Ser-OMe	L-L	184—185	—	—	—	537
Cbzo-Gly-His-Ser-OMe	L-L	163—165	—	—	—	537
Cbzo-Gly-His-Tyr-OMe	L-L	208	—	—	—	537
Cbzo-Gly-Leu-OEt	DL	52	—	—	—	723, 769, *774*
Cbzo-Gly-Leu-OMe	L	64—66	—	—	—	912
Cbzo-Gly-Leu-Gly-OEt	L	108—108,5	—28,6	25	3%, EtOAc	495, 694, *758*, 769a, 812в
Cbzo-Gly-Leu-Gly-OMe	DL	107—108	—	—	—	*697*, 758
Cbzo-Gly-Leu-Gly-OMe	D	131	—	—	—	878
Cbzo-Gly-Leu-Gly-OMe	L	132—133	—36,1	25	5%, MeOH	*697*, 722, 758, 878
Cbzo-Gly-Leu-Gly$_2$-Leu-Gly-OEt	L-L	186—188	—	—	—	812в
Cbzo-Gly-Leu-Gly-Leu-OMe	L-L	88—90	—	—	—	694
Cbzo-Gly-Leu$_2$-OMe	L-D	117—118	—	—	—	694
Cbzo-Gly-Leu$_2$-OMe	L-L	133—134	—47,4	25	2%, MeOH	694, 697, *758*
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OBz	L	87—89	—	—	—	833
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OMe	L	97	—	—	—	358, 613a, *667*
di(Cbzo-Gly)-Lys-OMe	DL	106	—	—	—	723
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Gly-OBz	L	120—122	—	—	—	706
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Gly-OEt	L	146	—	—	—	358
Cbzo-Gly-Nleu-OEt	DL	134	—	—	—	774
Cbzo-Gly-Phe-OBz	L	74	—	—	—	665
Cbzo-Gly-Phe-OEt	DL	92	—	—	—	697, 721, 722, 723, 734, 757, 759, 761, *774*, 832, 913
Cbzo-Gly-Phe-OMe	DL	83—84	—	—	—	900
Cbzo-Gly-Phe-Ala-OMe	L-L	124—125	—	—	—	611a
Cbzo-Gly-Phe-Gly-OEt	DL	132—134	—	—	—	*721*, 734, 758, 812б
Cbzo-Gly-Phe-Gly-OEt	L	118—119	—12,3	24	2%, EtOH	495, 697, *722*, 758, 785, *788*
Cbzo-Gly-Phe-Gly$_2$-OEt	D-L	174—176	—	—	—	721, 722, 808a
Cbzo-Gly-Ser-OBz	D-L	141—142	—	—	—	913a
Cbzo-Gly-(O-Bz-Ser)-OEt	D-L	84	—	—	—	828
Cbzo-Gly-Ser-OMe	L	96	—	—	—	537, 631
Cbzo-Gly-Ser-Gly-OBz	DL	169—170	—	—	—	913a
Cbzo-(O-Bz-Ser)-His-Leu-OMe	3L	152—153	—20,1	13	1%,EtOH	828
Cbzo-Gly-Tyr-OEt	L	126—127	+19,2	24	5%, EtOH	697, 700, *721*, *722*, 734, 757, 758, 761, 769, 914
Cbzo-Gly-(O-Bz-Tyr)-OMe	L	81	—	—	—	830

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-His-Ala-OEt	L-L	149,5—152	—25,0	22	1%, EtOH	695
Cbzo-His-β-Ala-OEt	L	122—123	—	—	—	621
im, N-diCbzo-His-Glu-$(OEt)_2$	L-L	78—80	+0,2	22	2,9%, EtOAc	841
Cbzo-His-Gly-OBz	L	134—136	—	—	—	621
Cbzo-His-Gly-OEt	L	113—114	—	—	—	621
Cbzo-His-Gly_2-OEt	L	180—181	—	—	-	621
Cbzo-His_2-OMe	L-L	74—75	—	—	—	621
Cbzo-His-Hypro-OMe	L-L	75—76	—	—	—	621
Cbzo-His-Leu-OMe	L-L	125—128	—25,5	22	1%, EtOH	621, *695*
im,N-diCbzo-His-Leu-OMe	L-L	101—103	+21,4	22	2,9%, EtOAc	841
im,N-diCbzo-His-Met-OMe	L-L	110—113	+9,1	22	2,8%, HOAc	841
Cbzo-His-Phe-OMe	L-L	161—163	—15,8	23	1,9%, диметилформамид	*471*a, 621, *713*
Cbzo-His-Phe-NO_2-Arg-Try-Gly-OBz	4L	183—185	—29,0	27	0,9%, диметилформамид	791
Cbzo-His-Ser-OMe	L-L	140—142	—	—	—	695
im,N-diCbzo-His-(O-Bz-Ser)-OMe	L-L	113—115	+19,8	22	3,0%, EtOAc	841
im,N-diCbzo-His-Thr-OMe	L-L	148—150	+12,7	22	3,1%, EtOAc	841
Cbzo-His-Tyr-OEt	L-L	94—95	—	—	—	621
Cbzo-Hypro-Ala-OMe	L-L	105	—	—	—	642
Cbzo-Hypro-$Asp(OEt)_2$	L-L	81—82	—	—	—	642
Cbzo-Hypro-Gly-OBz	L	153	—	—	—	169, *471*
Cbzo-Hypro-Gly_2-OEt	L	144—145	—11,1	21	1%, EtOH	823
Cbzo-Hypro-Leu-OMe	L-L	132—133	—	—	—	642
Cbzo-Hypro-Phe-OEt	L-L	102—103	—	—	—	642
Cbzo-Hypro-Phe-OMe	L-L	114—115	—29,2	27	2,8%, EtOH	524
Cbzo-Ileu-Ala-OBz	L-D	171	—0,7	27	2%, HOAc	454
Cbzo-allo-Ileu-Ala-OBz	D-D	162	+36,0	27	2%, HOAc	454
Cbzo-allo-Ileu-Ala-OBz	L-D	149	+4,6	27	2%, HOAc	454
Cbzo-Ileu-His-OMe	L-L	186—189	—44,2	25	1%, MeOH 1 н. HCl (1 : 1)	508
Cbzo-Ileu-His-OMe·HCl·H_2O	L-L	174—175 (с разл.)	—34	24	1,0%, H_2O	714
Cbzo-Ileu-His-Pro-Phe-OMe	4L	105—110	—56	22	1,0%, MeOH	714
Cbzo-$Ileu_2$-OBz	L-L	118—119	—37,3	25	2,0%, MeOH	914a
Cbzo-Leu-Ala-OMe	L-D	129—130	—1	27	4%, EtOH	466, *467*
Cbzo-Leu-Ala-OMe	L-L	95—96	—38	22	1%, EtOH	466, 467
Cbzo-Leu-Ala-Val-Phe-Gly-OEt	4L	223—225	—43,8	24	2,2%, HOAc	915
Cbzo-Leu-Ala-Val-Phe-Gly-Pro-OBz	5L	210—212	—53,5	22	2,1%, HOAc	915
Cbzo-Leu-CySBz-Gly-OBz	L-L	151—152	—	—	—	432a
Cbzo-Leu-Gly-OEt	DL	94—95 и	—	—	—	495, 613a, *769*, 805
Cbzo-Leu-Gly-OEt	L	104—105	—26,4	25	5%, EtOH	495, 613a, 625, *697*, 717, 721, 722, 734, 758, 759a, 805, 808, 808б, 878
Cbzo-Leu-Gly-OMe	L	92—94	—26,9	25	5%, MeOH	758
Cbzo-Leu-Gly_2-OEt	DL	102	—	—	—	611a
Cbzo-Leu-Gly_2-OEt	L	103—104,5	—11	25	5%, 95% EtOH	*179*, 611a, 878.
Cbzo-Leu-Gly_3-OEt	L	75	—	—	—	611a
Cbzo-Leu-Gly-Leu-OMe	L-L	89—91	—	—	—	694
Cbzo-Leu_2-OMe	L-D	81,5—82,5	+2,3	24	1%, EtOH	622
Cbzo-Leu_2-OMe	L-L	97—98,5	—35,3	24	10%, EtOH	622, 625, 721. *731*, 757, 834
Cbzo-Leu_2-Gly-OMe	L-L	108	—	—	—	455
Cbzo-Leu-Phe-OEt	D-L	114—115	—	—	—	660
Cbzo-Leu-Phe-OEt	L-D	107,5—108,5	—16,9	23	1%, EtOH	373, *622*, 698, 719
Cbzo-Leu-Phe-OEt	L-L	95—96	—21,6	23	1%, EtOH	*622*, 808б
Cbzo-Leu-Phe-OMe	L-D	112	—	—	—	*423*, 698
Cbzo-Leu-Phe-Pro-OEt	3L	134—136	—	—	—	698
Cbzo-Leu-Phe-Pro-OMe	L-D-L	40—42	—42,2	22	2,7%, MeOH	423, *698*.
Cbzo-Leu-Try-OMe	D-L	125—127	—	—	—	696

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Leu-Tyr-OBz	L-D	151,5—153	+5,1	25	0,5%, MeOH	679a
Cbzo-Leu-Tyr-OEt	L-D	122—123,5	+29,7	25	1%, MeOH	679a
Cbzo-Leu-Tyr-OEt	L-L	115—117	15,2	24	5%, EtOH	721, 722, *734*, 758
Cbzo-Leu-(O-Bz-Tyr)-OMe	L-L	109	—	—	—	830
Cbzo-Leu-Val-OMe	L-D	102—102,5	—7,9	25	1%, EtOH	622
Cbzo-Leu-Val-Glu-$(OEt)_2$	3L	177—178	—43,0	25	3%, HOAc	*718*, 915a
diCbzo-Lys-Ala-OBz	L-L	132	—	—	—	667
diCbzo-Lys-Ala-OEt	L-D	131,5	—	—	—	667
diCbzo-Lys-Ala-OEt	L-L	119	—	—	—	667
diCbzo-Lys-NO_2-Arg-OMe	L-L	70—72	—10,6	29	3,6%, MeOH	491
diCbzo-Lys-Asp-$(OEt)_2$	L-L	142	—	—	—	831
diCbzo-Lys-Glu-$(OEt)_2$	L-L	105	—	—	—	626
diCbzo-Lys-Gly-OBz	L	125	—	—	—	667
diCbzo-Lys-Gly-OEt	DL	83	—	—	—	723
diCbzo-Lys-Gly-OEt	L	92—93	—12,0	24	4%, EtOH	667, 697, *721*, 734, 831, 832, 834
diCbzo-Lys-Gly-OMe	L	122—123	—	—	—	833
diCbzo-Lys-Gly_2-Glu-$(OEt)_2$	L-L	134—135	—9,5	17	1,5%, EtOH	649
diCbzo-Lys-His-OMe	L-L	138—140	—	—	—	626
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OBz	L-L	139—142	—	—	—	833
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OEt	L-L	117—117,5	—5,6	18	2,5%, ацетон	584a
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OMe	L-D	134	—	—	—	667
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OMe	L-L	123	—8,1	20	4,5%, EtOH	667, *715*
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)$_2$-OBz	L-2D	151—152	—	—	—	706
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)$_2$-OBz	L-D-L	141—142	—	—	—	706
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)$_2$-OBz	3L	153—154[к]	—	—	—	*706*, 715
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)$_2$-OMe	3L	160—162[л]	—10,4	20	5%, HOAc	706, *715*
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)$_3$-OBz	4L	170—172	—	—	—	715
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)$_3$-OMe	4L	156—157	—	—	—	715
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)$_4$-OBz	5L	177—178	—	—	—	715
diCbzo-Lys-Phe-OEt	L-L	131		—	—	660
diCbzo-Lys-Tyr-OEt	L-L	140—142[м]	—6,2	20	5%, MeOH	660, *834*
diCbzo-Lys-Tyr-OMe	L-L	131—133	—	—	—	*584a*, 834
diCbzo-Lys-Tyr-Leu-OBz	3L	130,5—132	—	—	—	584a
diCbzo-Lys-Tyr-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OBz	3L	131—132	—	—	—	584a
diCbzo-Lys-Val-OEt	L-L	109—110	—17,4	22	2,9%, EtOH	507
diCbzo-Lys-Val-Phe-Gly-OEt	3L	199—200	—21,4	24	2%, HOAc	507
Cbzo-Met-Glu$(OEt)_2$	L-L	95—96	—20,9	25	1,3%, EtOH	444
Cbzo-Met-Gly-OEt	DL	72—74	—	—	—	627
Cbzo-Met-Gly-OEt	D	93—95	—	—	—	627
Cbzo-Met-Gly-OMe	L	95—96	—20,0	27	4,6%, EtOH	444, 627
Cbzo-Met-Gly_2-OEt	DL	79—81	—	—	—	900
Cbzo-Met_2-OMe	L	131—132	—	—	—	627
Cbzo-Met_2-OMe	L-D	112—114	+12,4	20	1%, MeOH	490
Cbzo-Met_3-OMe	L-L	104—105	—28,0	19	1%, MeOH	*490*, 627
Cbzo-Met-Tyr-OEt	3L	153	—38,0	17	1%, MeOH	490
diCbzo-Orn-Leu-OMe	L-L	109—111	—	—	—	627
diCbzo-Orn-Leu-Phe-Pro-OMe	L-L	83—84	—18	20	2,8%, EtOH	373
Cbzo-Phe-Ala-OMe	2L-D-L	86—88	—	—	—	421
Cbzo-Phe-NO_2-Arg-OMe	L-L	130—131	—	—	—	611a
Cbzo-Phe-Glu-$(OEt)_2$	L-L	160—161	—16,2	28	1,1%, MeOH	491
Cbzo-Phe-Gly-OBz	L-L	126—127	—11,4	25	2%, EtOH	709, *758*
Cbzo-Phe-Gly-OEt	L	137—139	—8,4	25	2%, HOAc	507, 665, 758
Cbzo-Phe-Gly-OEt	DL	97,5—99	—	—	—	*758*, 8085, 8126
Cbzo-Phe-Gly-OEt	D	109—111	—	—	—	313
Cbzo-Phe-Gly_2-OEt	L	110—111	—16,9	25	5%, EtOH	495, 682, 697, 700, *758*, 769a, 8086
Cbzo-Phe-Leu-OMe	DL	144	—	—	—	*759*, 774
	D-D	109	—	—	—	469

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Phe$_2$-OBz	L-L	149—150	+8,4	25	2%, $CHCl_3$	914a
Cbzo-Phe$_2$-OEt	L-L	140	—	—	—	916
Cbzo-Phe-Tyr-OEt	L-L	159—160	—9,4	24	10%, EtOH	*721*, 916
Cbzo-Pro-Gly-OEt	DL	59—60	—	—	—	170
Cbzo-Pro-Gly$_2$-OEt	L	120—120,5	—23,1	21	1%, EtOH	170, *823*
Cbzo-Pro-Gly$_3$-OEt	L	108—109	—	—	—	170
Cbzo-Pro-Gly-Phe-OMe	L-L	92—93	—	—	—	611a
Cbzo-Pro-Leu-OEt	L-L	68—69	—	—	—	717
Cbzo-Pro-Leu-Gly-OBz	L-L	116—117	—	—	—	717
Cbzo-Pro-Leu-Gly-OEt	L-L	148—149	—79,8	23	2,5%, EtOH	717, *865*
Cbzo-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-OEt	L-L	122,5—123,5	—29,1	22	1%, $CHCl_3$	393
Cbzo-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-Gly-OEt	L-L	151—151,5	—56,0	21	1%, HOAc	393
Cbzo-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-Gly-OEt·H_2O	L-L	129—130	—	—	—	393
Cbzo-Pro-Phe-His-Leu-OMe	4L	185—187	—60	—	1,0%, MeOH	638a
Cbzo-Pro-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Tyr-Pro-OMe	4L-D-L	199—201	—84,0	20	0,5%, MeOH	679a
Cbzo-Ser-Ala-OMe	L-L	113—114	—	—	—	501
Cbzo-Ser-Ala-Glu-(OEt)$_2$	3L	135	—	—	—	631
Cbzo-(O-Bz-Ser)-CyS-OMe	L-L	101—102	+22,2	15	2,7%, EtOAc	504
Cbzo-(O-Bz-Ser)-CyS-OMe	L-L					
Cbzo-Ser-Glu-(OEt)$_2$	L-L	85—86	—	—	—	498, *501*
Cbzo-Ser-Gly-OBz	DL	100—101	—	—	—	913a
Cbzo-Ser-Gly-OBz	L	102	—	—	—	501
Cbzo-Ser-Gly-OEt	DL	86—87	—	—	—	*498*, 537, 704
Cbzo-Ser-Gly-OEt	L	106—107	—	—	—	501, *785*
Cbzo-Ser-Gly-OMe	L	105—106	—	—	—	699, *907*
Cbzo-Ser-Gly-Ala-OEt	D-L	153—154	—5	25	2%, MeOH	717a
Cbzo-Ser-Gly-Ala-OEt	L-L	128—129	—23,5	25	2%, MeOH	717a
Cbzo-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-OBz	3L	250—251	—50,5	25	1%, HOAc	717a
Cbzo-Ser-Gly-Glu-(OEt)$_2$	L-L	106—107	—	—	—	631, *907*
Cbzo-Ser-Gly$_2$-OBz	L	151—153	—	—	—	699
Cbzo-Ser-Gly-Ser-OMe	L-L	173	—	—	—	631
Cbzo-Ser-His-OMe	L-L	121—122	—12,0	27	2%, HOAc	718
Cbzo-(O-Bz-Ser)-His-OMe	L-L	110	+7,2	15	4,9%, 99% EtOH	504
Cbzo-(O-Bz-Ser)-His-Leu-OMe	3L	152—153	—20,1	13	1%, EtOH	828
Cbzo-Ser-His-Leu-Val-Glu-(OEt)$_2$	5L	213	—46,3	27	3%, EtOH	718
Cbzo-(O-Bz-Ser)-His-Leu-Val-Glu-(OEt)$_2$	5L	192—193	—34,5	13	1%, HOAc	915a
Cbzo-Ser-Met-OMe	L-L	101—102	—	—	—	444
Cbzo-Ser$_2$-OMe	L-L	143—145	—	—	—	501
Cbzo-Ser-Tyr-OMe	L-L	115—116	+13,5	21	2,0%, диметилформамид	*471a*, 537
Cbzo-(O-Bz-Ser)-Tyr-OMe	L-L	111—112	+15,5	15	2,8%, 99% EtOH	504
Cbzo-Ser-Tyr-Ser-OMe	3L	191—192	—3,9	25	1,8%, пиридин	*444*, 471a
Cbzo-Ser-Tyr-Ser-Met-OMe	4L	190 (с разл.)	—39,0	27	0,7%, MeOH	444
Cbzo-Thr-Ala-OBz	L-D	147	—0,6	27	2%, HOAc	454
Cbzo-allo-Thr-Ala-OBz	L-D	142—143	+8,3	27	2%, HOAc	454
Cbzo-Thr-His-OMe	L-L	120—121	—16	28	4,3%, HOAc	504a
Cbzo-Thr-His-Leu-Val-Glu-(OEt)$_2$	5L	222—224	—51	28	1,9%, EtOAc	504a
Cbzo-Try-Gly-OEt	L	120	—	—	—	621
Cbzo-Try-Gly-OMe	L	158—159	—11,0	27	2,0%, HOAc	791
Cbzo-Try-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Leu-Ala-Val-Phe-Gly-Pro-OBz	7L	246—248	—43,6	22	1,4%, HOAc	915
Cbzo-(O-Ac-Tyr)-Asp-(OEt)$_2$	L-L	144	—	—	—	378
Cbzo-Tyr-CySBz-OEt	L-L	168,5—169°	—	—	—	646, *917*
O,N-diCbzo-Tyr-Gly-OEt	L	164—165	—2	21	4%, $CHCl_3$	803
Cbzo-(O-Ac-Tyr)-Gly-OEt	L	127	—	—	—	700
Cbzo-(O-Bz-Tyr)-Gly-OEt	L	137	—	—	—	830
Cbzo-Tyr-Gly$_2$-OEt	L	165—167	+6,5	24	2%, HOAc	700, *722*, 758
Cbzo-Tyr-His-OMe	L-L	165—166	—14,0	24	1%, MeOH	537
O,N-diCbzo-Tyr-Ileu-OEt	L-L	163—164	+9,0	23	4,3%, $CHCl_3$	804
Cbzo-(O-Ac-Tyr)-Leu-OMe	L-L	143	—	—	—	584a
Cbzo-(O-Ac-Tyr)-Phe-OEt	L-L	170	—	—	—	916

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Tyr-Ser-OMe	L-L	152	—3,1	23	2,2%, MeOH	*471*а, 537
Cbzo-Tyr$_2$-OEt	L-L	159—160,5	—	—	—	637
Cbzo-Tyr$_2$-OMe	L-L	174—175	—	—	—	637
Cbzo-(O-Ac-Tyr)-Tyr-OEt	L-L	160—161	—	—	—	378
Cbzo-(O-Ac-Tyr)-Tyr$_2$-OEt	3L	211	—	—	—	637
Cbzo-(O-Ac-Tyr)-Tyr$_3$-OEt	4L	236—237	—	—	—	637
Cbzo-Val-CySBz-OBz	L-L	155,5—156,5	—17,4	20	1,0%, $CHCl_3$	432а, *875*в
Cbzo-Val-Gly-OEt	DL	144—145°	—	—	—	380, 506, 697, 758, *769*
Cbzo-Val-Gly-OEt	L	166	—	—	—	*613*а, 808б
Cbzo-Val-Gly-OMe	DL	130—132	—	—	—	900
Cbzo-Val-His-OMe	L-L	165—166	—22	23	2,0%, EtOH	638а
Cbzo-Val-His-Pro-Phe-OMe	4L	95—150	—56	—	1,0%, MeOH	718а
Cbzo-Val-(N^{ε}-Tos-Lys)-OMe	L-L	130	—8	18	1,0%, HOAc	626а
Cbzo-Val-(N^{ε}-Tos-Lys)-Leu-Phe-Pro-OMe	3L-D-L	208—208,5	—48	23	1,1%, HOAc	626а
Cbzo-Val-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-OMe	L-L	155—156	0	18	2,5%, $CHCl_3$	*373*, 421
Cbzo-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-OMe	L-L	145	—	—	—	*423*, 719
Cbzo-Val-(N^{δ}-Tos-Orn-)-Leu-Phe-Pro-OMe	3L-D-L	184	—52,3	23	0,9%, HOAc	423
Cbzo-[Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro]$_2$-OMe	[3L-D-L]$_2$	209—211	—111,1	27	1,1%, MeOH	423
Cbzo-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Tyr-OEt	3L-D	182—185,5	—17,0	25	1%, MeOH	679а
Cbzo-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Tyr-Pro-OMe	3L-D-L	154—156	—56	25	2%, MeOH	679а
Cbzo-[Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Tyr-Pro]$_2$-OMe	[3L-D-L]$_2$	218—220	—112	25	0,5%, MeOH	679а
Cbzo-Val-Phe-Gly-OEt	L-L	191,5—192	—22,5	24	2,1%, HOAc	507
Cbzo-Val-Tyr-OEt	L-L	145—147	+34	23	4,0%, $CHCl_3$	638а
Cbzo-Val-Tyr-OMe	L-L	155,5—156	+10,2	25	4,8%, пиридин	*508*, 714
Cbzo-Val-Tyr-Ileu-His-OMe	4L	213—217	+6,0	25	5%, диметилформамид	508
Cbzo-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OMe	6L	162—167	—66,3	25	1,0%, MeOH	508
Cbzo-Val-Tyr-Val-OMe	3L	194—196	—24	—	4,1%, HOAc	638а
Cbzo-Val-Tyr-Val-His-OMe	4L	228—230 (с разл.)	—31	—	2,1%, HOAc	638а
Cbzo-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OMe	6L	155	—57	—	2%, EtOH	718а
Cbzo-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-His-Leu-OMe	8L	150—170	—73	—	1,0%, EtOH	638а
Cbzo-Val$_2$-OBz	L-L	116	—44,3	25	2,0%, MeOH	914а
Карбоаллилоксипроизводные (Callo)						
Callo-Met$_3$-OMe	3L	121—123	—41,0	21	2%, MeOH	490
n-Нитрокарбобензоксипроизводные (*n*-NO_2-Cbzo)						
n-NO_2-Cbzo-Arg-Glu-(OEt)$_2$·HCl	L-L	139—140	—9,8	25	0,9%, 95% EtOH	363
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-Glu-(OEt)$_2$	L-L	110	+2,2	22	2%, ацетон	513
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-Gly-OEt·H_2O	L	106—107	+7,1	22	1,2% »	513
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-Leu-OEt	L-L	154—155	—3,0	22	1,3% »	513
n-NO_2-Cbzo-Arg-Leu-OMe·HCl	L-L	167—169	—15,2	24	1%, 95% EtOH	513
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-Phe-OEt	L-L	165	+8,8	22	0,7%, ацетон	513
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-Tyr-OEt	L-L	139—140	+9,1	22	2,6%, »	513
n-NO_2-Cbzo-CyS-Gly-OEt	L	160—161	—76,6	25	1,1%, »	512
n-NO_2-Cbzo-CyS-Gly-OEt	L					
n-NO_2-Cbzo-CyS-Phe-OEt	L-L	173—174	—37,8	25	0,6%, »	512
n-NO_2-Cbzo-CyS-Phe-OEt	L-L					
n-NO_2-Cbzo-CySBz-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-Cly-OEt	3L	114—117	—20,1	24	3%, $CHCl_3$	393
n-NO_2-Cbzo-Gly-Glu-(OBz)$_2$	L	94—95	—14,3	19	1,3%, 96% EtOH	677
n-NO_2-Cbzo-Gly-Glu-(OEt)$_2$	L	85—87	—8,2	21	1,3%, 96% EtOH	677
n-NO_2-Cbzo-Gly-Glu-(OMe)$_2$	L	154—160	+5,4	19	1,6%, диоксан	677
n-NO-Cbzo-Gly-Leu-OMe	L	59—62	—26,5	26	1%, EtOH	462
n-NO_2-Cbzo-Leu-Gly-OEt	DL	90—91	—	—	—	803
n-NO_2-Cbzo-Leu$_2$-OMe	L-L	79,5—81,5	—24,1	24	1%, EtOH	462
Карбо-трет-бутилоксипроизводные (C-*t*-Buo)						
C-*t*-Buo-Ala-Gly-OMe	DL	101—102	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Gly-Phe-OEt	DL	102—103	—	—	—	465
C-*t*-Buo-Gly-Phe-OMe	DL	89—92	—	—	—	464

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °C	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
C-*t*-Buo-Gly-Phe-Gly-OEt	L	98—99	—10,9	25	2%, MeOH	465
C-*t*-Buo-Leu-Gly-OMe	L	128—131	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Leu$_2$-OEt	L-L	130—133	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Phe-β-Ala-OEt	DL	102—106	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Phe-Gly-OEt	L	89,5—90	—4,3	25	2%, EtOH	465
C-*t*-Buo-Phe-Gly-OMe	DL	150—152	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Val-Gly-OMe	DL	113—114	—	—	—	464
Карбоциклопентилоксипроизводные (C-*cy*-Peo)						
C-*cy*-Peo-Ala-Gly-OMe	DL	84—87	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-β-Ala-Phe-OMe	DL	102—105	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Gly$_2$-OMe	—	67—70	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Gly-Phe-OMe	DL	104—105	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Ileu-Gly-OMe	L	144—146	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Ileu-His-OMe	L-L	199—203	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Leu$_2$-OEt	L-L	139—140	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Met-Gly-OMe	DL	78—100	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Nval-Gly-OMe	DL	93—95	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-(O-Ac-Tyr)-Gly-OMe	L	143—147	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Val-Gly-OMe	DL	135—136	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Val-Gly-OMe	L	149—154	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Val-Leu-Gly-OMe	L-L	172—177	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Val-Ser-OMe	L-L	149—155	—	—	—	464
Карбоциклогексилоксипроизводные (C-*cy*-Hexo)						
C-*cy*-Hexo-Gly-Leu-OMe	L	158—159	—	—	—	464
C-*cy*-Hexo-Phe-Gly-OMe	DL	113—115	—	—	—	464
Формильные производные (Form)						
Form-(CySBz)$_2$-OMe	L-L	116—117	—	—	—	432a
Form-Phe-Gly-OEt	DL	98,5—99	—	—	—	586
Form-Phe-Gly-OEt	L	131—132	+4,4	26	2,3%, EtOH	586
Form-(O-Ac-Tyr)-Leu-OBz	L-L	156—157	—	—	—	584a
Form-(O-Ac-Tyr)-(N$^{\varepsilon}$-Cbzo-Lys)-OBz	L-L	157	—	—	—	584a
Form-Val-Gly-OEt	L	156—157	—	—	—	586
Form-Val-Phe-OMe	L-L	148—149,5	—43,2	28	1,5%, MeOH	586
Form-Val-Phe-Gly-OEt	L-L	187—188	—12,5	28	0,9%, HOAc	586
Фенилтиокарбонильные производные (PhTC)						
PhTC-Gly-Ala-OMe	DL	116[p]	—	—	—	*578*, 579
PhTC-Gly-CySH-OEt	—	114	—	—	—	578
PhTC-Gly$_2$-OEt	—	127[c]	—	—	—	*578*, 579
Фталильные производные (Phth)						
Phth-Ala-Gly-OEt	L	136,5—137	—	—	—	808б
Phth-Ala-Gly$_2$-OEt	L	165—166,5	—16,1	17	1,3%, EtOH	808б
Phth-Ala-Pro-OBz	L-L	101—102	—135	27	—, EtOH	785
Phth-CySH-Met-OEt	L-L	108—109	—42,3	24	0,6%, бензол	875a
Phth-Glu-OH	L	162	—	—	—	527
└— Glu-(OEt)$_2$	L	82—83	—3,1	21	1,4%, $CHCl_3$	533
Phth-Glu(OMe)-Gly-OMe	DL	157—158	—	—	—	533
Phth-Glu-OH						
└— Gly-OMe	L	177,5—179	—25	—	2%, EtOH	535
Phth-Glu-OH	L	206—207	—	—	—	797
└— Tyr-OEt	L	165	—29,0	20	0,1%, EtOH	*390*, 808б
Phth-Gly-Ala-OEt	L	90—93	—17,1	20	2%, 96% EtOH	677
Phth-Gly-CySBz-OEt	L	143	—17,8	22	2,1%, 96% EtOH	677
Phth-Gly-Glu-(OBz)$_2$	L	158—160	—16,2	22	0,6%, 96% EtOH	677, 536, 723
Phth-Gly-Glu(OEt)$_2$	—	194—195	—	—	—	740, 758, 759, 774; *788*, 791a, 797, 798, 808a, 808б, 918
Phth-Gly-Glu-(OMe)$_2$	—	203—204	—	—	—	*522*, 731
Phth-Gly$_2$OEt	L	187—188	—9,1	20	0,8%, $CHCl_3$	536
Phth-Gly$_2$-OMe						
Phth-Gly$_2$-CySBz-OEt						

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Phth-Gly$_3$-OEt		229—230	—	—	—	413, *536*, 791а, 808б, 919
Phth-Gly$_2$-Leu-OEt	L	156—157	+21,2	29	3,3%, $CHCl_3$	536
Phth-Gly-His-OMe	L	199—201	—	—	—	537
Phth-Gly-(3,4-di-OH-Phe)-OMe	DL	196—197 (с разл.)	—	—	—	526
Phth-Gly-Leu-OEt	L	144—145	—26,5[т]	24	2%, EtOH	721, *722*, 734, 758
Phth-Gly-Phe-OEt	DL	148—152	—	—	—	734, 757, *758*
Phth-Gly-Phe-OEt	L	148,5—149,5	—	—	—	808б
Phth-Gly-Ser-OMe	DL	225	—	—	—	537, 685
Phth-Gly-Tyr-OEt	L	163—164[у]	+43,0	24	2%, EtOH	535, 721, *734*, 797
Phth-Gly-Val-OMe	L	188—189,5	—9,2	22	0,6%, EtOAc	808б
Phth-Leu-Gly-OEt	L	118—118,5	—6,7	24	1%, EtOH	808б
Phth-Phe-Gly-OEt	L	160—161	—146	26	2%, EtOH	522, 758, *785*, 788, 808а, *808б*
Phth-Phe-Gly$_2$-OEt	DL	162—163	—	—	—	721
Phth-Phe-Leu-OEt	L-L	108—109	—115	26	—, EtOH	785, *788*
Phth-Phe$_2$-OMe	L-L	101—102	—128	26	—, EtOH	788
Phth-(O-Ac-Ser)-Phe-OMe	L-L	131—132	+14,7	27	2,6%, EtOH	524
Phth-Thr-Leu-OBz	L-L	109—110	—16,7	26	5,1%, EtOH	524
Phth-Thr-Phe-OMe	L-L	153—154	+1,9	27	6,6%, диметилформамид	524
Phth-Thr-Phe$_2$-OMe	3L	147—148	—25,6	27	1,8%, EtOH	524
Phth-Val-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-OMe	L-L	104,5—105	—	—	—	544
Phth-Val-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-Leu-Phe-Pro-OMe	3L-D-L	117—119	—	—	—	544
Phth-Val$_3$-OMe	3L	163,5—164,5	+21,6	30	2,6%, $CHCl_3$	543а
Phth-Val$_3$-OMe	2L-D	176—177	—9,8	28	2,9%, $CHCl_3$	543а
Phth-Val$_3$-OMe	L-D-L	156,5—157,5	+64,2	26	2,7%, $CHCl_3$	543а
Phth-Val$_3$-OMe	L-2D	158—159	+53,8	25	2,6%, $CHCl_3$	543а
Phth-Val$_3$-OMe	3D	163—164,5	—21,7	28	2,8%, $CHCl_3$	543а
Phth-Val$_3$-OMe	2D-L	176—177	+9,7	28	2,6%, $CHCl_3$	543а
Phth-Val$_3$-OMe	D-2L	158—159	—53,0	25	2,4%, $CHCl_3$	543а
Phth-Val$_3$-OMe	D-L-D	156,5—157,5	—63,2	26	2,6%, $CHCl_3$	543а
п-Толуолсульфонильные производные (Tos)						
Tos-CySBz-Tyr-OEt	L-L	109—110	+3,7	19	2,4%, 95% EtOH	400, *432*
Tos-CySBz-Tyr-Gly-OEt	L-L	134,5	—	—	—	400
Tos-CySBz-Tyr-Ileu-OMe	3L	193—194	—	—	—	400, *868*, 919а
Tos-CySBz-Tyr-Leu-OEt	3L	154	—	—	—	400
Tos-CySBz-(O-Ac-Tyr)-Leu-OEt	3L	166—168	—	—	—	400
Tos-CySBz-Tyr-Leu-OMe	3L	193	—	—	—	400
Tos-CySBz-Tyr-Leu-Gly-OEt	3L	194—195	—	—	—	400
Tos-CySBz-Tyr-Phe-OMe	3L	180—181	—42,6	22	1,2%, MeOH	482а
Tos-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-OBz	3L	228—229	—30,7	23	1%, диметилформамид	*482а*, 906
Tos-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-OBz	3L	193—195	—	—	—	868
Tos-Glu(NH_2)-CySBz-OEt	L-L	178—180	+26,1	22	1%, диоксан	432а
Tos-Glu(NH_2)-(CySBz)$_2$-OBz	3L	176—177	—	—	—	432а
Tos-Glu-NH_2 | — Gly-OBz	L	178	+25,0	21	1,5%, HOAc	701
Tos-Glu(NH_2)-Gly-OEt	L	169—170	—2	—	1%, диметилформамид	803
Tos-Glu-NH_2 | — Gly-OEt	L	190	+27,9	21	0,5%, HOAc	701
Tos-Glu(OEt)-Gly-OEt	L	109	—	—	—	890
Tos-Glu-OH | — Gly-OEt	D	189—190	—	—	—	433
Tos-Glu-OH | — Gly-OEt	L	191	—	—	—	890
Tos-Glu(OMe)-Gly-OMe	L	99—100	—	—	—	890

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	Температура, °С	концентрация и растворитель	
Tos-Glu-OH	L	181—182	—	—	—	890
└— Tyr-OEt	L					
Tos-Ileu-Gly-OEt	L	160—161	—	—	—	438
Tos-Ileu-Leu-OMe	L-L	147—148	—	—	—	438
Tos-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Gly-OBz	L	127,5—128,5		—	—	429
Tos-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Gly-OEt	L	103—104			—	429
Tos-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-Gly-OBz	L	132—133	—	—	—	429
Tos-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-Gly-OEt	DL	124,5—125,5	—	—	—	429
Tos-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-Gly-OEt	L	132,5—133,5	—	—	—	429
Tos-Pro-Leu-Gly-OEt	L-L	145—146	—	—	—	717
Tos-Thr-Thr-OMe	D-D	182—184	+16,0	20	2%, MeOH	687
Tos-Thr-Thr-OMe	L-L	182—183	—15,9	17	2%, MeOH	687
Tos-Val-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-OMe	L-L	187	0	20	1,8%, $CHCl_3$	421
Tos-Val-Orn-Leu-Phe-Pro-OMe·HCl	3L-D-L	236	—94,6	18	1%, MeOH	421
Tos-Val-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-Leu-Phe-Pro-OMe	3L-D-L	201	—	—	—	421
Трифторацетильные производные (TFA)						
TFA-Ala_2-OEt	L-L	139	—77,8	9	1%, EtOH	*573*, 814
TFA-Ala_3-OEt	3L	241—243	—79,4	22	0,3%, EtOH	814
TFA-Ala-Gly-OEt	DL	115—116	—	—	—	568, 571, *573*, 814
TFA-Ala-Gly-OEt	L	99—101	—58,8	15	1,6%, EtOH	*573*, 814
TFA-CyS-Gly-OEt	L	190,5—191	—130	20	2%, ацетон	477
TFA-CyS-Gly-OEt	L					
TFA-Glu-OEt	L	165,5	—41,7	20	0,7%, EtOH	477
└— CySH-Gly-OEt	L					
TFA-Glu-OEt	L	226	—21,3	20	0,5%, HOAc	477
└— CyS-Gly-OEt	L					
└— CyS-Gly-OEt	L					
TFA-Glu-OEt	L					
TFA-Glu-OEt	L	84	—5,6	23	0,7%, тетрагидрофуран	576
└— Glu-$(OEt)_2$	L					
TFA-Gly_2-OEt	—	145	—	—	—	568, 573, 814
TFA-Gly_3-OEt	—	232—234	—	—	—	814
TFA-Phe-Gly-OEt	DL	131—133	—	—	—	814
TFA-Pro-Gly-OEt	L	113	—68,2	17	0,5%, тетрагидрофуран	576
TFA-Pro-Gly-OEt	DL	112—114	—	—	—	814
TFA-Val-Ala-OEt	L-L	135—137	—53,0	22	1,3%, EtOH	814
TFA-Val-Gly-OEt	L	141	—64,4	15	1%, EtOH	*573*, 814
TFA-Val-Gly-OEt	DL	144—145	—	—	—	571
Трифенилметильные производные (Tri)						
Tri-Ala-Gly-OEt	DL	147—148	—	—	—	547
Tri-Ala-Gly-OEt	L	155—165	—	—	—	548
Tri-Arg-Try-OMe·HCl	L-L	170	+14,6	22	5,3%, диметилформамид	471a
Tri-Asp(NH_2)-(CyS-Tri)-Pro-Leu-Gly-OMe	4L	—	—77	20	1%, $CHCl_3$	790
Tri-Asp(NH_2)-Gly-OBz	L	160	—74	20	1%, $CHCl_3$	790
Tri-Asp(NH_2)-Gly-OEt	L	182	—	—	—	548a
Tri-(CyS-Tri)-Pro-Leu-Gly-OMe	3L	130 (с разл.)	+112	20	2%, $CHCl_3$	673
Tri-(CyS-Tri)-Tyr-OEt	L-L	183ф	+77	20	2%, $CHCl_3$	673
Tri-(CyS-Tri)-Tyr-Ileu-Glu(OMe)-Asp(OMe)-(CyS-Tri)-Pro-Leu-Gly-OMe	8L	120	0	20	2%, $CHCl_3$	673
Tri-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OBz	L-L	170	—5,5	25	1%, EtOH	790
Tri-Glu(OMe)-Asp(OMe)-(CyS-Tri)-Pro-Leu-Gly-OMe	5L	130	—26	20	2%, $CHCl_3$	673

Соединение	Конфигурация	Т. пл., С°	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Tri-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-(CyS-Tri)-Pro-Leu-Gly-OMe	5L	—	—35	20	1%, $CHCl_3$	790
Tri-Glu-NH_2 └— Gly-OBz	L	160	+27	20	1%, $CHCl_3$	790
Tri-Glu(OMe)-Leu-OMe	L-L	121—122	+10,0	30	2%, MeOH	675
Tri-Gly-Ala-OMe	DL	135	—	—	—	548
Tri-Gly_2-OBz	—	153	—	—	—	548
Tri-Gly_2-OEt	—	162	—	—	—	545, 546, 547, *548*, 806
Tri-Gly_2-OMe	—	165	—	—	—	548
Tri-Gly_3-OEt	—	185,5—186	—	—	—	806
Tri-Gly_4-OEt	—	180,5 (с разл.)	—	—	—	806
Tri-Gly_2-Phe-OEt	DL	149	—	—	—	546
Tri-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OMe	L	75 (с разл.)	—11,9	21	2%, пиридин	471а
Tri-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Pro-Val-OMe	3L	65 (с разл.)	—33,5	21	2%, MeOH	471а
Tri-Gly-Phe-Gly-OEt	DL	149—149,5	—	—	—	812б
Tri-Gly-Phe-Gly-OEt	L	140	—	—	—	548а
Tri-Gly-Try-OMe	DL	164—165	—	—	—	547
N,N′-di-Tri-His-Phe-OMe	L-L	95 (с разл.)	+18,0	22	2,8%, MeOH	471а
N,N′-di-Tri-His-Phe-Arg-Try-OMe·HCl	4L	170—178 (с разл.)	—27,6	21	1,3%, диметилформамид	471а
Tri-Try-Gly-OEt	DL	203	—	—	—	789
Tri-Val-(N^{ε}-Tos-Lys)-Leu-Phe-Pro-OMe	3L-D-L	111	—28	24	1,0%, MeOH	626а
Tri-[Val-(N^{ε}-Tos-Lys)-Leu-Phe-Pro]$_2$-OMe	[3L-D-L]$_2$	—	—49	23	0,9%, MeOH	626а
Tri-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro-OMe	3L-D-L	123,5—125,5	—	—	—	719
Tri-[Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro]$_2$-OMe	[3L-D-L]$_2$	140—142	—67	23	0,7%, MeOH	719
о-Нитрофеноксиацетильные производные (*о*-NO_2-Phoac)						
о-NO_2-Phoac-Gly_2-OEt	—	142—143,5	—	—	—	494
о-NO_2-Phoac-Phe-Leu-OMe	L-L	164—167	—	—	—	494

[а] Т. пл. 201° [558].
[б] Т. пл. 113° [726]; т. пл. 128° [878].
[в] Т. пл. 135° [472].
[г] Т. пл. 151—152° [767].
[д] Т. пл. 150—152° [882].
[е] Т. пл. 100—101° [390].
[ж] Т. пл. 148° [390].
[з] Диморфная форма плавится при 185° [723, 774]
[и] Т. пл. 85—86° [805]; т. пл. 91° [495].
[к] Т. пл. 161—162° [715].
[л] Т. пл. 142—145° [707].
[м] Т. пл. 106—107° [660].
[н] Т. пл. 142—145° [646].
[о] Т. пл. 105—106° [380]; т. пл. 148,5—149,5°, [697, 758].
[п] Т. пл. 144—147°, $[\alpha]_D^{24}$+54° (1,1%, в хлороформе) [714].
[р] Т. пл. 121—123° [579].
[с] Т. пл. 131—133° [579].
[т] $[\alpha]_D$—29,0° (2%, в этаноле) [721, 758].
[у] Т. пл. 167°, $[\alpha]_D$+38° (1,3%, в этаноле) [797]; т. пл. 174—176° [535]; т. пл. 164—165°, $[\alpha]_D^{24}$+46,0° (2%, в этаноле) [721].
[ф] Т. пл. 135° [673].

поскольку в него включены главным образом лишь представители различных типов производных, которые могут быть получены синтетическим путем. В случае если одно и то же соединение было описано двумя или более самостоятельными группами исследователей, выделенный курсивом номер ссылки в таблицах этой главы указывает ту группу исследователей, данные которой приведены в таблице. Если, однако, различные исследователи приводят резко различающиеся температуры плавления и величины оптического вращения, то соответствующие значения даются в подстрочных примечаниях к таблице. Во всяком случае, всегда следует учитывать возможность частого существования эфиров ацилированных пептидов в диморфных формах, имеющих различные температуры плавления; естественно, что эти формы должны иметь те же самые значения оптического вращения.

Сокращения, принятые для соединений, перечисленных в табл. 93, приведены в табл. 52 (стр. 277); сокращения для остатков других аминокислот приняты следующие: α-амино-*н*-масляная кислота — α-NH_2-*н*-But; α-аминоизомасляная кислота — α-NH_2-iso-But; нитроаргинин — NO_2-Arg; S-бензилцистеин — CySBz; γ-бензиловый, γ-метиловый и γ-этиловый эфиры глутаминовой кислоты — Glu(OBz), Glu(OMe) и Glu(OEt); γ-оксиглутаминовая кислота — γ-OH-Glu; δ-оксилизин — δ-OH-Lys; изовалин — Ival; фенилсерин — Phser; 3,4-диоксифенилаланин — 3,4-di-OH-Phe; α,ε-диаминопимелиновая кислота — α,ε-di-NH_2-Pim; O-ацетилсерин — O-Ac-Ser; O-бензилсерин — O-Bz-Ser; O-ацетилтирозин — O-Ac-Tyr; O-бензоилтирозин — O-Bzoyl-Tyr; O-бензилтирозин — O-Bz-Tyr; 3,5-дииодтирозин — I_2-Tyr. Правила использования таких сокращений для обозначения пептидных производных были описаны в разделе 1. Соединения, содержащие остатки моноаминодикарбоновой кислоты, т. е. глутаминовой и аспарагиновой кислот, заслуживают особого рассмотрения. Так, сокращение Glu(NH_2) используется для обозначения остатка глутамина (—$NHCH(CH_2CH_2CONH_2)CO$—), где скобки, в которые заключена H_2N-группа, означают, что речь идет о производном по γ-карбоксильной группе. С другой стороны, остаток

$$(NH_2CH(CH_2CH_2CO_2H)CONH_2)$$

изоглутамина обозначается Glu-NH_2, где дефис в центре между Glu и NH_2 показывает, что речь идет о производном по α-карбоксильной группе. Отсюда глутамин и изоглутамин обозначаются соответственно H-Glu(NH_2)-OH и H-Glu(OH)-NH_2. Согласно этой схеме, такие соединения, как глицилглутаминилглицин и глицилизоглутаминилглицин, должны обозначаться как H-Gly-Glu(NH_2)-Gly-OH и H-Gly-Glu(Gly-OH)-NH_2 или H-Gly-Glu-NH_2 соответственно, в то время как глицил-α-глутамилглицин и глицил-γ-глутамилглицин должны обозначаться формулами H-Gly-Glu-Gly-OH для первого соединения и H-Gly-Glu(Gly-OH)-OH или H-Gly-Glu-OH для последнего.

```
                    |—Gly-OH
```

Аналогичным образом, α- и γ-этиловые эфиры глутаминовой кислоты следует изображать как H-Glu(OH)-OEt и H-Glu(OEt)-OH соответственно. Аналогичные обозначения принимаются для α- и β-производных аспарагиновой кислоты.

Производные, перечисленные в табл. 93, располагаются в следующем порядке в зависимости от имеющегося у них N-ацильного заместителя:

1. N-Бензил (или N, N-дибензил)
2. Бензилсульфонил
3. Бензилтиокарбонил
4. Карбобензокси
5. Карбоаллилокси
6. *п*-Нитрокарбобензокси
7. Карбо-*трет*-бутокси
8. Карбоциклопентилокси
9. Карбоциклогексилокси
10. Фенилтиокарбонил
11. Фталил
12. *п*-Толуолсульфонил
13. Трифенилметил
14. *о*-Нитрофеноксиацетил

Каждое соединение внутри данной группы располагается в алфавитном порядке согласно названию аминокислоты, непосредственно связанной с N-ацильным заместителем (латинский алфавит). Широкое использование карбобензоксигруппы в пептидном синтезе видно уже из того факта, что производные, содержащие этот ацильный заместитель, составляют около 75% общего числа перечисленных соединений, в то время как другие наиболее часто применяемые защитные группы, т. е. фталильная и тозильная, встречаются уже менее чем в 6% перечисленных соединений каждая. В таблицу включены только хорошо охарактеризованные соединения точно установленного строения. Смеси эпимеров, такие, как этиловый эфир карбобензокси-DL-лейцил-L-лейцина и метиловый эфир фталил-L-аланил-DL-валина, преднамеренно не включены в таблицу, поскольку они не являются чистыми соединениями и, с другой стороны, не имеют физических характеристик, свойственных чистым соединениям. Так, например, хотя первая смесь эпимеров может иметь элементарный анализ, свидетельствующий об ее аналитической чистоте, тем не менее эта смесь будет иметь величину оптического вращения, которая иногда является промежуточной между соответствующими величинами оптически чистых D-L- и L-L-стереоизомеров в зависимости от относительного количества каждой из двух стереохимических форм в смеси. Характерно, что, несмотря на сравнительную доступность оптически чистых аминокислот в качестве исходных веществ для пептидного синтеза, даже в новейшей химической литературе при описании синтезов таких эпимерных смесей обычно приводят отвечающие им данные элементарного анализа, температуры плавления и величины оптического вращения.

41. Получение и физические константы амидов ациламинокислот и ацилпептидов. Амиды ациламинокислот и ацилпептидов (III; R^3=H) обычно могут быть синтезированы двумя различными путями. Первый путь заключается во взаимодействии ациламинокислоты или ацилпептида (I; R^2 = H) с аммиаком (II; R^3 = H), амидом аминокислоты (II; R^3 = CHR^1CONH_2) или амидом пептида путем использования подходящего метода конденсации; поскольку при этих синтезах используются, в сущности, те же приемы, что и в синтезе эфиров ацилпептидов (разделы 26—39), их дальнейшее обсуждение представляется нецелесообразным. Другой метод заключается

$$\underset{\text{I}}{—NHCHR^1CO_2R^2} + \underset{\text{II}}{NH_2R^3} \longrightarrow \underset{\text{III}}{—NHCHR^1CO—NHR^3}$$

в аммонолизе метиловых, этиловых и бензиловых эфиров ациламинокислот и ацилпептидов (I; R^2 = CH_3, C_2H_5 или $CH_2C_6H_5$). В обычной практике соответствующий ацилированный эфир (см. табл. 83 и 93) растворяют в 10—20-кратном объеме метанола, предварительно насыщенного аммиаком при температуре от 0 до —5°, и реакционную смесь оставляют в запаянной ампуле при комнатной температуре на несколько дней; при этом получают соответствующий амид (методика 147). С точки зрения удобства, а также для увеличения выхода продукта реакции иногда целесообразно проводить аммонолиз без предварительной кристаллизации или очистки промежуточного ацилированного эфира (методика 148). В тех случаях, когда исходный эфир ограниченно растворим в метанольном растворе аммиака или не подвергается аммонолизу в этой среде, иногда оказывается более плодотворным

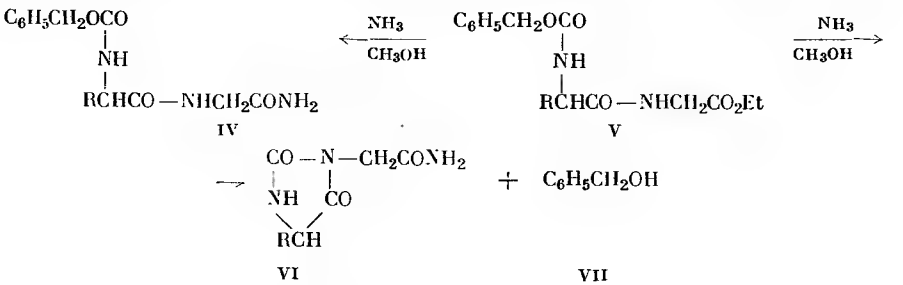
использование других систем, таких, как этанольный раствор аммиака или жидкий аммиак. Хотя скорость реакции аммонолиза значительно возрастает с повышением температуры, в этих условиях заметно увеличивается опасность расщепления пептидных связей, особенно в случае весьма лабильных высших полипептидов. Во всяком случае, относительные скорости аммонолиза различных ацилированных эфиров во многом зависят от степени стерического экранирования, обусловленного боковой цепью С-концевого аминокислотного остатка и, в случае эфиров ациламинокислот, N-ацильным блокирующим заместителем. Так, например, в тех случаях, когда боковая цепь аминокислотного остатка, включающего сложноэфирную группу, относительно мало экранирует последнюю (в глицине или аланине), соответствующий эфир оказывается более чувствительным к действию аммиака; обратная картина наблюдается в случае весьма экранированных производных валина и изолейцина. Наконец, значительная устойчивость к действию аммиака, обычно проявляемая эфирами N-тритилированных аминокислот, не имеет места в случае соответствующих N-карбобензоксипроизводных, которые обладают менее объемистым N-ацильным заместителем.

Типичная методика 147 [916]. Амид карбобензоксиглицил-L-тирозина. Раствор 7,8 *г* этилового эфира карбобензоксиглицил-L-тирозина (методика 80) в 75 *мл* метанола, предварительно насыщенного аммиаком при 0°, оставляют в запаянной ампуле при комнатной температуре на 2 *суток*. Затем реакционную смесь концентрируют в вакууме при температуре не выше 40° и сиропообразный остаток кристаллизуют из водного этанола; выход 5,3 *г*, т. пл. 170°.

Типичная методика 148 [916]. Амид карбобензокси-L-фенилаланина. К раствору 10 *г* хлоргидрата этилового эфира L-фенилаланина (методика 48) в минимальном количестве воды добавляют избыток твердого карбоната натрия и полученную смесь быстро экстрагируют (несколько раз) охлажденным до 0° этилацетатом. Этилацетатный раствор высушивают безводным сульфатом натрия и затем при перемешивании и охлаждении обрабатывают 4 *г* окиси магния и 8 *г* карбобензоксихлорида (методика 27). Избыток карбобензоксихлорида разрушают путем добавления небольшого количества пиридина и этилацетатный слой затем последовательно промывают разбавленной соляной кислотой, водой, разбавленным раствором бикарбоната натрия и снова водой. После высушивания безводным сульфатом натрия этилацетатный раствор концентрируют в вакууме до сиропообразного остатка, который растворяют затем в 50 *мл* метанола, предварительно насыщенного аммиаком при 0°. Раствор оставляют на 2 *суток* при комнатной температуре в запаянной ампуле и концентрируют в вакууме; получают 6,5 *г* кристаллического вещества с т. пл. 167°.

В табл. 94 приведены температуры плавления и величины удельного вращения амидов некоторых ациламинокислот и ацилпептидов. Эти соединения, вообще говоря, могут быть получены с использованием методов, которые были обсуждены выше. Поскольку трифторацетильная и фталильная группы легко отщепляются в присутствии аммиака, амиды, содержащие указанные группы, не могут быть получены аммонолизом соответствующих ацилированных эфиров; в таких случаях амиды пептидов могут быть синтезированы путем реакции ациламинокислоты с амидом другой аминокислоты с использованием подходящего метода конденсации. Амиды тритиламинокислот могут быть получены конденсацией соответствующей тритиламинокислоты с аммиаком с помощью дициклогексилкарбодиимида. Хотя аммонолиз эфиров карбобензоксиаминокислот и карбобензоксипептидов, как

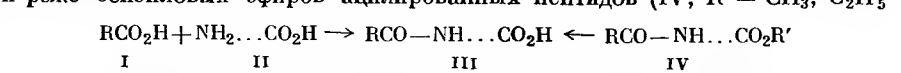
правило, протекает гладко с образованием соответствующих амидов (IV), иногда все же возможны осложнения. Так, Фрутон и Бергман [916] при попытке получить амид карбобензокси-L-фенилаланилглицина (IV; R = $C_6H_5CH_2$) путем обработки этилового эфира соответствующего ацилпептида (V) метанольным раствором аммиака выделили амид 5-бензилгидантоин-3-уксусной кислоты (VI; R = $C_6H_5CH_2$) (методика 149); аналогичное явление наблюдалось Деккером, Тейлором и Фрутоном [627] при их попытке превратить этиловый эфир карбобензокси-L-лейцилглицина (V; R = $(CH_3)_2CHCH_2$) и этиловый эфир карбобензокси-L-метионилглицина (V; R = $CH_3SCH_2CH_2$) в соответствующие амиды. Такого рода реакции,



протекающие с отщеплением бензилового спирта (VII), во многом напоминают отмеченное ранее (раздел 6) превращение этилового эфира карбэтоксиглицилглицина под действием щелочи в карбонил-*бис*-глицин с образованием в качестве промежуточного продукта гидантоин-3-уксусной кислоты. Однако большой экспериментальный материал свидетельствует о том, что аммонолиз эфиров ациламинокислот и ацилпептидов, за исключением отмеченных случаев, протекает, как правило, с образованием соответствующих амидов.

Типичная методика 149 [916]. Амид 5-бензилгидантоин-3-уксусной кислоты. Раствор 4,4 *г* этилового эфира карбобензокси-L-фенилаланилглицина (методика 77) в 50 *мл* метанола, предварительно насыщенного аммиаком при 0°, оставляют в запаянной ампуле на 2 *суток* при комнатной температуре. Реакционную смесь упаривают и твердый остаток перекристаллизовывают из горячей воды; выход 2,4 *г*, т. пл. 218°.

42. Получение и физические константы ацилированных пептидов (свободных кислот). В предыдущих разделах были рассмотрены методы синтеза N-ацилированных пептидов (III) путем конденсации ациламинокислоты или ацилпептида (I) со свободной аминокислотой или пептидом (II) в щелочной среде с использованием подходящего конденсирующего агента. Другой возможный путь синтеза этих соединений заключается в превращении эфиров ацилированных пептидов (IV; R′ = алкил) в соответствующие свободные кислоты (III) на основе избирательного гидролиза сложноэфирной группы. Для этой цели обычно используют омыление метиловых, этиловых и реже бензиловых эфиров ацилированных пептидов (IV; R′ = CH_3, C_2H_5



или $C_6H_5CH_2$) небольшим избытком щелочи с последующим переведением полученной соли в соответствующую свободную кислоту. На практике эфир ацилированного пептида встряхивают с 1—2 эквивалентами водной щелочи

Таблица 94

Амиды ацилпиноксилот и ацилпептидов

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	Удельное вращение: температура, °С	Удельное вращение: Концентрация и растворитель	Литература
N-*Бензильные производные* (Bz)						
N-Bz-Asp-NH_2	DL	180	—	—	—	555
Бензилсульфонильные производные ($BzSO_2$)						
$BzSO_2$-Met-NH_2	L	141—142	+14,4	25	1%, бутанон	601
Карбобензоксипроизводные (Cbzo)						
Cbzo-β-Ala-NH_2	—	164	—	—	—	899
Cbzo-Ala-Gly-NH_2	DL	125	—	—	—	920a
Cbzo-β-Ala-Gly-NH_2	—	176	—	—	—	899
Cbzo-Ala-Gly-Phe-NH_2	L-L	224—225	—	—	—	902
Cbzo-β-Ala-His-NH_2	L	179—180	—	—	—	621
Cbzo-Ala-Leu-NH_2	D-L	187—188	—6,0	30	1%, EtOH	467
Cbzo-Ala-Leu-NH_2	L-L	188—189	—41	30	1%, EtOH	467
Cbzo-Ala-Phe-NH_2	L-L	210—211	—	—	—	902
Cbzo-Ala-Tyr-NH_2	L-L	216	—	—	—	902
diCbzo-(α,ε-diNH_2-Pim)-$(NH_2)_2$	DL	223—224	—	—	—	478
Cbzo-NO_2-Arg-NH_2	L	219—220	—	—	—	541
α,ω,ω-triCbzo-Arg-NH_2	L	182—185	—	—	—	904
Cbzo-Asp-NH_2	L	164	+6,9	18	1,5%, HOAc	*128*, 60
Cbzo-Asp-$(NH_2)_2$	L	219—223 (с разл.)	—	—	—	683
Cbzo-CySBz-Ala-NH_2	L-L	181	—	—	—	432a
Cbzo-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	3L	170—171	—	—	—	717
Cbzo-CySBz-Tyr-Ileu-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	8L	241	—51,5	19	2,5%, HOAc	82, *472*
Cbzo-CySBz-Tyr-Ileu-Glu-NH_2 | Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	8L	234,5—236,5	—44,1	21,7	1%, диметилформамид	623
Cbzo-CySBz-Tyr-Ileu-Glu(NH_2)-Glu(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	8L	260	—	—	—	629
Cbzo-CySBz-Tyr-Leu-Glu-(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	8L	228	—54,9	19	2,7%, HOAc	629
Cbzo-CySBz-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	8L	228 [a]	—51,8	19	2,5%, HOAc	*629*, 846
Cbzo-CySBz-Tyr-Val-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	8L	232	—	—	—	*629*, 708
Cbzo-CySBz-Pro(N^{ε}-Tos-Lys)-Gly-NH_2	3L	101—104	—29,3	21	1%, $CHCl_3$	*88*, 393
Cbzo-Glu-NH_2	L	175	—	—	—	*128*, 481, 610, 682a
Cbzo-Glu$(NH_2)_2$	DL	181—183	—	—	—	921
Cbzo-Glu(OBz)-NH_2	L	126—127	—	—	—	922
Cbzo(γ-OH-Glu)-NH_2	DL	149—150	—	—	—	485
Cbzo(allo-γ-OH-Glu)-NH_2	DL	160—161	—	—	—	485
Cbzo-Glu(OMe)-NH_2	L	118—120	—5,7	24	1%, MeOH	683
Cbzo-Glu-NH_2 | Asp(NH_2)-OH	L L	187,5—188	+7,3	21	3%, диметилформамид	623
Cbzo-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Arg-Gly-NH_2·HBr	5L	—	—34,8	22	1%, диметилформамид	482a
Cbzo-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	5L	206	—	—	—	472
Cbzo-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2·$^1/_2H_2O$	5L	209—210	—	—	—	868
Cbzo-Glu-NH_2 | Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	5L	212—214	—	—	—	623
Cbzo-Glu(NH_2)-Glu(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	5L	238	—	—	—	629
Cbzo-Glu-Leu-NH_3	L-L	165—169	—	—	—	912
Cbzo-Glu-Phe-NH_2	L-L	185—187	—	—	—	923
Cbzo-Glu-Tyr-NH_2	L-L	181	—	—	—	709
Cbzo-Glu(NH_2)-Tyr-NH_2	L-L	240	—	—	—	709
Cbzo-Gly-NH_2	—	138—139	—	—	—	*684*, 795, 924
Cbzo-Gly-β-Ala-NH_2	—	179	—	—	—	899

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °C	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
Cbzo-Gly-Ala-NH_2	DL	146—147	—	—	—	*830*a, 920a
Cbzo-Gly-Glu-Gly-NH_2	L	175	—	—	—	700
Cbzo-Gly_2-NH_2	—	179—181	—	—	—	916
Cbzo-Gly_3-NH_2	—	220	—	—	—	911
Cbzo-Gly_2-Leu-NH_2	L	181—182	—	—	—	912
Cbzo-Gly_2-Phe-NH_2	L	196—197	—	—	—	902
Cbzo-Gly-His-NH_2	L	212—213 (с разл.)	—	—	—	925
Cbzo-Gly-Hypro-NH_2	L	208	—	—	—	169
Cbzo-Gly-Glu-NH_2	L	185	—	—	—	878
Cbzo-Gly-Leu-NH_2	L	123—124	—	—	—	912
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-NH_2	L	134—138	—	—	—	358, *833*
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Gly-NH_2	L	90—95	—	—	—	358
Cbzo-Gly-Met-NH_2	L	131—134	—	—	—	627
Cbzo-Gly-Phe-NH_2	L	130	—	—	—	916
Cbzo-Gly-Phe-Gly-NH_2	DL	161,5—162	—	—	—	812б
Cbzo-Gly-Phe-Gly-NH_2	L	178	—	—	—	700
Cbzo-Gly-Phe-Gly-Phe-Gly-NH_2	L-L	192—193	—	—	—	902
Cbzo-Gly-Pro-NH_2	L	150—151	—	—	—	169
Cbzo-Gly-Tyr-NH_2	L	145	—	—	—	505
Cbzo-Gly-Tyr-NH_2	L	170	—	—	—	916
Cbzo-Gly-Tyr-Gly-NH_2	L	192	—	—	—	700
Cbzo-Gly-Val-NH_2	DL	181	—	—	—	920a
Cbzo-His-$NH_2 \cdot {}^1/_2H_2O$	L	196—197	—	—	—	621
Cbzo-His-Leu-NH_2	L-L	183—184	—	—	—	621
Cbzo-His-Phe-NH_2	L-L	203—204	—	—	—	621
Cbzo-His-Tyr-$NH_2 \cdot {}^1/_2H_2O$	L-L	205—206	—	—	—	621
diCbzo-(δ-OH-Lys)-NH_2	DL	154	—	—	—	830a
diCbzo-(δ-allo-OH-Lys)-Gly-NH_2	DL	83—85	—	—	—	830a
Cbzo-*t*-Leu-NH_2	D	—	−15,5	26	2%, EtOH	371
Cbzo-Leu-NH_2	D	123—124	—	—	—	926
Cbzo-Leu-NH_2	L	122—123	—	—	—	926
Cbzo-Leu-Ala-NH_2	L-D	181—182	−6,0	22	1%, EtOH	467
Cbzo-Leu-Ala-NH_2	L-L	189	−26,0	27	0,6%, EtOH	467
Cbzo-Leu-Gly-NH_2	DL	138—139	—	—	—	805
Cbzo-Leu-Gly-NH_2	L	80	−10,5	19	1,8%, $CHCl_3$	472
Cbzo-Leu-Phe-NH_2	L-L	176—178	—	—	—	660
diCbzo-Lys-NH_2	L	155	0	17	0,7%, пиридин	*358*, *649*
diCbzo-Lys-Gly-NH_2	L	135	—	—	—	833
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-NH_2	L-L	203—204	—	—	—	833
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Tyr-NH_2	3L	188	—	—	—	584a
diCbzo-Lys-Phe-NH_2	L-L	170	—	—	—	660
diCbzo-Lys-Tyr-NH_2	L-L	183	—	—	—	584a, *660*
Cbzo-Met-NH_2	DL	119—121	—	—	—	627
Cbzo-Met-NH_2	D	125	—	—	—	627
Cbzo-Met-NH_2	L	125	—	—	—	627
Cbzo-Met-Gly-NH_2	L	120—122	—	—	—	627
Cbzo-Met_2-NH_2	L-L	196	—	—	—	627
Cbzo-Phe-NH_2	L	167	+12,0	20	1%, $CHCl_3$	*793*, 916
Cbzo-Phe-Gly-NH_2	L	134	—	—	—	916
Cbzo-Phe_2-NH_2	L-L	230	—	—	—	916
Cbzo-Phe-Tyr-NH_2	L-L	221	—	—	—	916
Cbzo-Pro-NH_2	DL	117	—	—	—	927
Cbzo-Pro-NH_2	D	94	+33,9	23	2%, EtOH	927
Cbzo-Pro-NH_2	L	94	−33,8	23	2%, EtOH	927
Cbzo-Pro-Leu-Gly-NH_2	L-L	163	−71,9	20	2,5%, EtOH	*472*, 717, 86
Cbzo-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-Gly-NH_2	L-L	183—185	—	—	—	393
Cbzo-Pro-Phe-NH_2	L-L	180—181	—	—	—	660
Cbzo-Pro-Tyr-NH_2	L-L	172—173	—	—	—	660
Cbzo-Ser-NH_2	L	132—133	+14,4	26	5%, EtOH	501
Cbzo-Ser-Phe-NH_2	L-L	189	—	—	—	928
Cbzo-Thr-NH_2	L	82—83	—	—	—	627
Cbzo-Try-NH_2	L	187—188	—	—	—	612

Продолжение табл. 94

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °C	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	Литература
Cbzo-Try-Gly-NH_2	L	135—136	—	—	—	621
Cbzo-Tyr-Gly-NH_2	L	116	—	—	—	700
Cbzo-Tyr-Gly_2-NH_2	L	218	—	—	—	700
Cbzo-Tyr-Phe-NH_2	L-L	220	—	—	—	916
Cbzo-Tyr_2-NH_2	L-L	187—189	—	—	—	916
Cbzo-Val-Gly-NH_2	DL	166	—	—	—	920a
Карбоаллилоксипроизводные (Callo)						
Callo-Gly-NH_2	—	107—107,5	—	—	—	684
Callo-Leu-NH_2	DL	83—85	—	—	—	684
n-Нитрокарбобензоксипроизводные(*n*-NO_2-Cbzo)						
n-NO_2-Cbzo-Arg-Gly-NH_2 (пикрат)	L	165—168	—3,8	22	1%, ацетон-H_2O (4 : 1)	510, *511*
n-NO_2-Cbzo-CySBz-Pro-Arg-Gly-NH_2 (пикрат)	3L	182—185	—47,7	22	1%, ацетон-H_2O (4 : 1)	*510*, 511
n-NO_2-Cbzo-Asp-NH_2	DL	162—163	—	—	—	509
n-NO_2-Cbzo-Glu-NH_2	L	166—170	+4,0	24	10%, диметилформамид	509
n-NO_2-Cbzo-Ileu-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	6L	242—243	—	—	—	868
Карбо-трет-бутилоксипроизводные(C-*t*-Buo)						
C-*t*-Buo-Leu-NH_2	L	136—140	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Val-NH_2	DL	146—148	—	—	—	464
Фталильные производные (Phth)						
Phth-Asp-NH_2	L	220—222	—	—	—	885
Phth-Asp(OMe)-NH_2	DL	141	—	—	—	685
Phth-Glu-NH_2	DL	170—172	—	—	—	607
Phth-Glu(OBz)-NH_2	DL	126—128	—	—	—	607
Phth-Gly-NH_2	—	259—260	—	—	—	740
Phth-Gly_2-NH_2	—	252—253 (с разл.)	—		—	798
Phth-Leu-Gly-NH_2	D	188	+24	—	1%, MeOH	798
n-Толуолсульфонильные производные (Tos)						
Tos-Arg-NH_2·HCl	L	—	—	—	—	422
Tos-CySBz-Tyr-Ileu-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2·H_2O	8L	242—244	—	—	—	868
Tos-CySBz-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-Gly-NH_2	8L	226—230	—23,0	18	2,1%, диметилформамид	*88*, 432
Tos-Glu-NH_2	DL	158—170	—	—	—	434
Tos-Glu-(NH_2)$_2$	L	220—221 (с разл.)	+16,2	22	1,8%, HOAc	435, *686*
Tos-Glu(OMe)-NH_2	L	164—165	—	—	—	436
Tos-Glu(NH_2)-Asp-CySBz-NH_2	3L	222—226	—	—	—	868
Tos-Glu(NH_2)-CySBz-NH_2	L-L	226	—	—	—	432a
Tos-Glu-OH └Gly-NH_2	L	208	—	—	—	890
Tos-Ileu-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	6L	236,5—237,5	—	—	—	82
Tos-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-NH_2	L	157—158	—	—	—	4396
Tos-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Gly-NH_2	L	164,5—165,5	—	—	—	429
Tos-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-NH_2	DL	143—144	—	—	—	4396
Tos-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-NH_2	L	135—136	—	—	—	4396
Tos-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-Gly-NH_2	DL	192—193	—	—	—	429
Tos-Val-Orn-Leu-Phe-Pro-NH_2·HCl	3L-D-L	268—270 (с разл.)	—	—	—	421
Трифторацетильные производные (TFA)						
TFA-Ala-NH_2	DL	172	—	—	—	573
TFA-Asp-NH_2	L	191	—29,9	19	1,2%, MeOH	576
TFA-Tyr-NH_2	L	228—228,5 (с разл.)	+39,8	27	2%, EtOH	577
Трифенилметильные производные (Tri)						
Tri-(CyS-Tri)-Tyr-Ileu-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-(CyS-Tri)-Pro-Leu-Gly-NH_2	8L	—	+5,0	—	2%, $CHCl_3$	673
Tri-Glu(OMe)-NH_2	L	120	+26,0	20	1%, $CHCl_3$	790
Tri-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Pro-Val-NH_2	3L	110 (с разл.)	—39,0	21	2,6%, MeOH	471a
N, N′-diTri-His-Phe-Arg-Try-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Pro-Val-NH_2	7L	180	—27,9	21	2,0%, диметилформамид	471a

[a] Т. пл. =210—212°, $[\alpha]_D^{21}$=—48,1° (0,8%, диметилформамид) [846].

при комнатной температуре или на холоду до его полного растворения и затем реакционную смесь нейтрализуют небольшим избытком минеральной кислоты (методика 150); при наличии в молекуле пептида весьма чувствительных к кислотам N-тритильной и N-формильной групп для нейтрализации используют уксусную кислоту или строго один эквивалент минеральной кислоты. В тех случаях, когда эфиры пептидов ограниченно растворимы в воде, иногда целесообразно использовать в качестве среды для реакции омыления смесь водной щелочи и какого-либо смешивающегося с водой органического растворителя, например метанола, этанола или диоксана (методики 151 и 152). Очевидно, что скорость реакции омыления в значительной мере зависит от степени стерического экранирования, обусловленного боковой цепью аминокислотного остатка, содержащего сложноэфирную группу. Поэтому время, необходимое для завершения реакции омыления, может быть различным, от нескольких минут, как в случае пептидов с С-концевым остатком глицина, до нескольких часов в случае более экранированных эфиров (в частности, производные изолейцина и валина). За исключением N-фталилпроизводных, которые в щелочной среде подвергаются частичному гидролизу до соответствующих фталамовых кислот, а также N-трифторацетилпроизводных, проявляющих заметную тенденцию к гидролитическому отщеплению ацильной группы в слабощелочной среде, указанный метод синтеза ацилпептидов, основанный на селективном омылении сложноэфирной группы, можно рассматривать как общий для всех эфиров N-ацилированных пептидов, перечисленных в табл. 93. Однако следует отметить, что другие лабильные к щелочам группировки, такие, как О-ацильная группа О-ацилированных оксиаминокислот и ω-сложноэфирная группа α-аминодикарбоновых кислот, также легко подвергаются гидролизу в указанных выше условиях (раздел 39). Кроме того, действие щелочи приводит к расщеплению имидной связи пирролидонового цикла остатка пироглутаминовой кислоты и образованию α-глутамилпроизводных (методика 143).

Типичная методика 150 [700]. Карбобензоксиглицил-L-тирозин. 1 *г* тонкоизмельченного этилового эфира карбобензоксиглицил-L-тирозина (методика 80) встряхивают в течение 15 *мин* с 7 *мл* 1 н. раствора едкого натра при комнатной температуре, реакционную смесь фильтруют и фильтрат при охлаждении подкисляют 1 н. соляной кислотой. Полученную сиропообразную массу экстрагируют этилацетатом и этилацетатный раствор в свою очередь экстрагируют водным раствором бикарбоната натрия. Осторожное при охлаждении подкисление водных экстрактов приводит к выделению нужного продукта реакции. Перекристаллизацию проводят из этилацетата; т. пл. 107°.

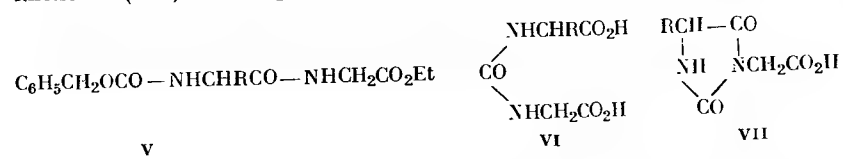
Карбобензокси-α-L-глутамил-L-валин [610]. Раствор 0,8 *г* этилового эфира карбобензокси-α-L-глутамил-L-валина (методика 133) в 5 *мл* 1 н. раствора едкого натра оставляют на 1 *час* при комнатной температуре и затем подкисляют 5 н. соляной кислотой. Выпавшее масло вскоре кристаллизуется; примерно через 30 *мин* кристаллы отфильтровывают, промывают водой, высушивают на воздухе и, наконец, промывают кипящим эфиром; выход 0,5 *г* (68%). После перекристаллизации из смеси этилацетата с петролейным эфиром т. пл. 131—133°.

Типичная методика 151 [473]. Карбобензокси-S-бензил-L-цистеинил-S-бензил-L-цистеин. Смесь 454 *г* этилового эфира карбобензокси-S-бензил-L-цистеинил-S-бензил-L-цистеина (методика 70) в 4,6 *л* диоксана и 480 *мл* 2 н. раствора едкого натра встряхивают 5 *час* при 5° и затем полученный

прозрачный раствор обрабатывают 167 *мл* 6 н. соляной кислоты. Реакционную смесь концентрируют до небольшого объема в вакууме при температуре не выше 40° и остаток разбавляют водой. Выпавшее масло при растирании стеклянной палочкой кристаллизуется. Кристаллы отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают водой и кристаллизуют из этилацетата путем осторожного добавления петролейного эфира; выход 355 *г*, т. пл. 152°, $[\alpha]_D^{26}$ —50,6° (2%, в ацетоне).

Типичная методика 152 [547, 548]. Тритилглицилглицин. Смесь 2 *г* этилового эфира тритилглицилглицина (методика 102) и 20 *мл* 20%-ного раствора едкого кали в метаноле кипятят 2 *мин*, разбавляют 20 *мл* воды и метанол отгоняют в вакууме; остаток при охлаждении подкисляют уксусной кислотой. Выпавший коллоидный осадок отфильтровывают и переводят в кристаллическое состояние путем обработки небольшим количеством эфира; при этом продукт реакции получают в виде тонких игл. После перекристаллизации из этанола т. пл. 180°; выход более 90% теории.

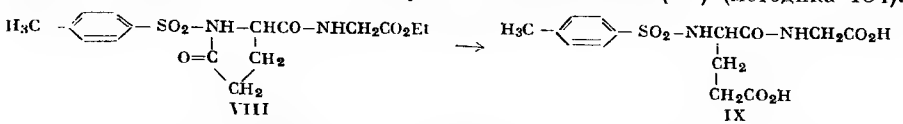
При щелочном омылении эфиров N-карбобензоксипептидов типа V, в которых С-концевым аминокислотным остатком является остаток глицина, иногда могут встретиться осложнения, связанные с образованием различных продуктов в зависимости от количества используемой щелочи и времени реакции [759а]. Введение 1 экв. щелочи при комнатной температуре обычно приводит к образованию соответствующей кислоты с удовлетворительным выходом, при увеличении же количества щелочи выходы заметно снижаются. Так, например, при омылении этилового эфира карбобензоксиглицилглицина 1 эквивалентом 0,5 н. раствора едкого натра при комнатной температуре с выходом 85% получают соответствующую кислоту; напротив, при использовании 2 эквивалентов щелочи карбобензоксиглицилглицин удается выделить лишь с выходом 47%, если реакцию проводят в течение 1 *час*, и не удается выделить совсем, если реакцию проводят в течение 5 *час* [759а]. Такое поведение указанных соединений может быть объяснено тем, что пептидные производные типа V при действии щелочи способны претерпевать элиминирование бензилового спирта за счет карбобензоксигруппы с одновременной перегруппировкой в производные мочевины (VI) или гидантоин-3-уксусной кислоты (VII). Это превращение аналогично ранее отмеченной перегруп-



пировке карбэтокси- и карбометоксипроизводных пептидов в щелочной среде (раздел 6). В случае пептидов типа V, но содержащих в качестве С-концевого остатка остаток другой аминокислоты (а не глицина), подобных перегруппировок не наблюдается, если омыление проводится в мягких условиях, обычно применяемых в синтетической пептидной химии.

Поскольку N-фталильная группа в щелочной среде легко подвергается частичному гидролизу, то в случае эфиров пептидов, содержащих эту защитную группировку, целесообразно использовать другие методы расщепления сложноэфирной связи. В частности, в случае метиловых, этиловых и бензиловых эфиров для этой цели с успехом может быть использован кислотный гидролиз, а в случае бензиловых эфиров — каталитический гидрогенолиз.

Несмотря на исключительно мягкие условия каталитического гидрогенолиза, его использование применительно к N-фталилированным пептидам до настоящего времени ограничивалось лишь дебензилированием дибензилового эфира фталилглицил-L-глутаминовой кислоты [677]; поскольку каталитическое гидрирование приводит также к легкому отщеплению карбобензокси-, *п*-нитрокарбобензокси-, карбоаллилокси- и N-бензильной групп, то этот метод более широко используется в случае бензиловых эфиров тех пептидов, которые не содержат указанных N-ацильных защитных групп (раздел 44). Расщепление сложноэфирной связи эфиров N-фталилированных дипептидов обычно осуществляется путем гидролитического действия разбавленной соляной кислоты или ее смеси с ацетоном (методика 153) [522, 524, 533, 535, 536, 677, 797]. Поскольку для завершения гидролиза обычно требуется проводить реакцию в течение нескольких часов при повышенной температуре, данный метод не рекомендуется использовать в случае лабильных высших полипептидов. С другой стороны, в случае этилового эфира тозил-L-пироглутамилглицина (VIII) обработка разбавленной соляной кислотой в 50%-ном этаноле приводит к одновременному отщеплению сложноэфирной группы и раскрытию пирролидонового цикла с образованием соответствующей тозил-α-глутаминаминокислоты (IX) (методика 154).



В то время как N-фталил- и N-тозилпроизводные пептидов относительно устойчивы к действию минеральных кислот при нагревании, соответствующие формил- и карбобензоксипроизводные при тех же условиях легко подвергаются гидролизу с отщеплением N-ацильной группы.

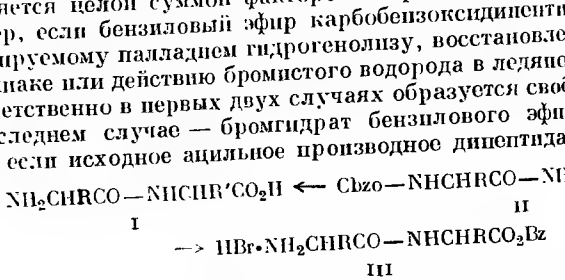
Типичная методика 153 [524]. Фталил-L-треонил-L-фенилаланин. К раствору 0,84 *г* (0,0021 моля) метилового эфира фталил-L-треонил-L-фенилаланина (методика 86) в 30 *мл* ацетона добавляют 10 *мл* воды и 5 *мл* концентрированной соляной кислоты, смесь кипятят 2,5 *час* и ацетон отгоняют в вакууме. Остаток экстрагируют этилацетатом и объединенный этилацетатный раствор в свою очередь извлекают водным раствором бикарбоната натрия. Водные вытяжки подкисляют, продукт реакции вновь экстрагируют этилацетатом, экстракт высушивают безводным сульфатом натрия и растворитель отгоняют в вакууме. После перекристаллизации твердого остатка из водного этанола получают 0,51 *г* (64%) вещества с т. пл. 207—208°; $[\alpha]_D^{27}$ +23,2° (1,7%, в этаноле).

Типичная методика 154 [890]. Тозил-α-L-глутамилглицин. Раствор 1,84 *г* этилового эфира тозил-L-пироглутамилглицина (методика 142) в 5 *мл* горячего этанола обрабатывают 5 *мл* 7%-ной водной соляной кислоты и смесь нагревают в открытой колбе на кипящей водяной бане в течение 2 *час*. После охлаждения полученную кристаллическую массу отфильтровывают на воронке Бюхнера и промывают небольшим количеством воды; выход 1,45 *г* (91%). Продукт реакции очищают путем переведения его в соответствующую соль при действии щелочи и последующего подкисления (см. методику 143); т. пл. 210°.

В табл. 95 приведены температуры плавления и удельные вращения некоторых ацилированных пептидов, которые были получены на основе описанных ранее методов.

Снятие N-ацильных защитных групп

43. Получение и физические константы пептидов, эфиров пептидов, амидов пептидов и амидов аминокислот. Свободные пептиды, их эфиры и амиды, а также амиды аминокислот обычно могут быть получены путем избирательного деацилирования соответствующих N^{α}-ацильных производных (см. табл. 93—95). Методы, которыми обычно проводят такое деацилирование, включают в себя каталитический гидрогенолиз, химическое восстановление такими реагентами, как никель Ренея или натрий в жидком аммиаке, кислотный и щелочной гидролиз, аминолиз, гидразинолиз и окисление; конкретное использование каждого из этих методов описывается в разделах 44—48. Однако перед этим необходимо подчеркнуть, что хотя для удаления какой-либо защитной группы часто можно использовать несколько различных методов, выбор метода, используемого для получения данного соединения, определяется целой суммой факторов и требует критической оценки. Так, например, если бензиловый эфир карбобензоксидипептида (II) подвергнуть катализируемому палладием гидрогенолизу, восстановлению натрием в жидком аммиаке или действию бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте, то соответственно в первых двух случаях образуется свободный дипептид (I), а в последнем случае — бромгидрат бензилового эфира дипептида (III). Однако если исходное ацильное производное дипептида (II) содержит остаток S-бензилцистеина, то каталитический гидрогенолиз полностью тормозится, действие бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте приводит, как и описано выше, к удалению лишь N-ацильной группы, тогда как при восстановлении натрием в жидком аммиаке одновременно отщепляются S-бензильная, N-ацильная и эфирная бензильная группы. Отсюда становится ясным, что перед выбором пути синтеза данного производного следует учитывать природу применяемого реагента и те ограничения, которые накладывает используемый метод.



Начальные разделы данной главы касаются методов синтеза пептидов (а также их эфиров и амидов), которые не связаны с последующим удалением ацильной защитной группы (разделы 4—11). Кроме того, эфиры пептидов можно получить путем обработки соответствующего свободного пептида спиртовым раствором хлористого водорода или путем использования ряда других методов этерификации, хотя такой путь синтеза эфиров пептидов, как правило, используется очень редко. В то время как пептиды, а также их эфиры и амиды наиболее просто получать путем деацилирования их N^{α}-ацильных производных, амиды аминокислот обычно получают путем аммонолиза хлоргидратов эфиров аминокислот (методика 155) или соответствующих свободных аминоэфиров (методика 156). В том случае, когда исходным соединением является хлоргидрат эфира аминокислоты, следует тщательно удалить избыток хлористого водорода во избежание загрязнения конечного продукта трудно отделяемым хлористым аммонием; для устранения этой опасности обычно достаточно несколько кристаллизаций вводимого в реакцию хлоргидрата эфира аминокислоты с последующим высушиванием его в вакууме при комнатной температуре над гранулированным едким натром. Как и в случае получения ранее упомянутых амидов ацилированных аминокислот и пептидов (раздел 41), скорость аммонолиза в данном случае

Таблица 95

Ацилированные пептиды (свободные кислоты)

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
N-*Бензильные производные* (Bz)						
Bz-Ala-Gly-OH	DL	234—235	—	—	—	551
Bz-Asp-Gly-OH	DL	187	—	—	—	555
diBz-(α-NH_2-*n*-But)-Gly-OH	DL	175	—	—	—	552
diBz-Gly-Glu-OH	L	176—178	—	—	—	552
diBz-Gly_2-OH	—	138—140	—	—	—	551, *552*
diBz-Gly_3-OH	—	—	—	—	—	551
diBz-Gly-Ser-OH	DL	165 (с разл.)	—	—	—	552
diBz-Gly-Ser-OH·HCl	DL	165 (с разл.)	—	—	—	551
diBz-Gly-Try-OH	DL	165—168	—	—	—	552
diBz-Gly-Val-OH	DL	127—128	—	—	—	552
Bz-Try-Gly-OH	DL	198—200	—	—	—	551
Бензилсульфонильные производные ($BzSO_2$)						
$BzSO_2$-Leu_2 OH	L-L	140—141	—52,9	24	1%, 1н. NaOH	601
$BzSO_2$-Met_2-OH	L-D	136—137	—51,3	26	1%, 1н. NaOH	929
$BzSO_2$-Met_2-OH	L-L	107—108	—25,2	26	1%, 1н. NaOH	929
Бензилтиокарбонильные производные (BzTC)						
BzTC-Gly_2-OH	—	177—178	—	—	—	580
Карбоаллилоксипроизводные (Callo)						
Callo-Leu_2-OH	L-L	113—114	—25,1	22	2%, $CHCl_3$	930
Карбобензоксипроизводные (Cbzo)						
Cbzo-Ala_2-OH	D-D	153	—	—	—	666
Cbzo-Ala_2-OH	D-L	116	—	—	—	468
Cbzo-Ala_2-OH	L-D	116,5	—	—	—	666
Cbzo-Ala_2-OH	L-L	152—153	—	—	—	896
Cbzo-Ala-(α-NH_2-iso-But)-OH	L	165	—	—	—	466
Cbzo-Ala-NO_2-Arg-OH	L-L	171—172	—9,4	25	1,3%, MeOH	491
Cbzo-Ala-NO_2-Arg-Asp-OH	3L	97—101	+5,5	19	2%, ацетон	845
Cbzo-Ala-(α-NH_2-*n*-But)-OH	D-L	141	—	—	—	468
Cbzo-Ala-(α-NH_2-*n*-But)-OH	L-L	154	—	—	—	468
Cbzo-Ala-Glu-Ala-OH	D-L-D	118—120	—4,5	23	2%, HOAc	891
Cbzo-Ala-Glu-Ala-OH	D-L-L	210—212	—11,4	22	2%, HOAc	891
Cbzo-Ala-Glu-Ala-OH	L-L-D	157—159	—29,5	24	2%, HOAc	891
Cbzo-Ala-Glu-Ala-OH	3L	130—140	—31,6	24	2%, HOAc	891
Cbzo-Ala-Gly-OH	DL	133	—	—	—	712, *723*, 774
Cbzo-Ala-Gly-OH	D	см. [896]	—	—	—	466
Cbzo-Ala-Gly-OH	L	132	—17,4	17	5%, EtOH	466, *613a*, 875*b*, 896
Cbzo-β-Ala-Gly-OH	—	146—149	—	—	—	899
Cbzo-β-Ala-Gly_2-OH	—	184—185	—	—	—	899
Cbzo-Ala-Gly-Tyr-OH	L-L	128	—	—	—	931
Cbzo-Ala-His-OH	L-L	131	—	—	—	359
Cbzo-β-Ala-His-OH	L	160—161	—	—	—	690
Cbzo-Ala-His-OH·$2H_2O$	L-L	131	—	—	—	359
Cbzo-β-Ala-His-Gly-OH	L	166—167	—	—	—	621
Cbzo-β-Ala-Leu-OH	L	111	—	—	—	899
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OH	D-L	162	—	—	—	667
Cbzo-Ala-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OH	L-L	134	—	—	—	667
Cbzo-Ala-Nval-OH	D-L	151	—	—	—	468
Cbzo-Ala-Nval-OH	L-L	145	—	—	—	468
Cbzo-β-Ala-Phe-OH	DL	142	—	—	—	899
Cbzo-Ala-Phe-OH	D-L	74	—	—	—	468
Cbzo-Ala-Phe-OH	L-L	122[a]	—	—	—	468, 903
Cbzo-β-Ala-Pro-OH	L	91—93	—	—	—	899
Cbzo-Ala-Ser-OH	L-L	204—205	—	—	—	631
Cbzo-Ala-Tyr-OH	L-L	149—150	—	—	—	903
Cbzo-Ala-(O-Ac-Tyr)-OH	L-L	145,5—146,5	—	—	—	495
Cbzo-Arg-Ala-OH	L-L	207—208	—5,9	29	1,8%, пиридин	491
Cbzo-NO_2-Arg-Asp-OH	L-L	97—101	+5,5	19	2%, ацетон	845
Cbzo-Arg-Glu-OH	L-L	211—212	—	—	—	541
α,ω-diCbzo-Arg-Glu-OH	L-L	160	—	—	—	904

Продолжение табл. 95

Соединение	Конфигурация	Т. пл. °C	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	Литература
Cbzo-NO_2-Arg-Glu-OH	L-L	224—225	0	27	1%, пиридин	491
Cbzo-NO_2-Arg-Gly-OH	L	111—113	—16,8	28	1%, MeOH	*491*, 541
Cbzo-Arg-Leu-OH	L-L	223—224 (с разл.)	—26,0	24	2%, 0,4 н. HBr	471
Cbzo-NO_2-Arg-Leu-OH	L-L	165—167	—5,0	27	1,7%, пиридин	*491*, 541
Cbzo-NO_2-Arg-Phe-OH	L-L	225—226	+13,1	29	0,6% »	*491*, 541
Cbzo-NO_2-Arg-Try-OH	L-L	202—203	+20,8	30	1,5% »	491
Cbzo-NO_2-Arg-Tyr-OH	L-L	171—173	+17,9	28	3,5% »	491
Cbzo-Asp(NH_2)-NO_2-Arg-OH	L-L	98—103	+7	22	2%, MeOH	714
Cbzo-Asp(OMe)-NO_2-Arg-OH	L-L	78—85	—7,4	25	5%, пиридин	508
Cbzo-Asp(NH_2)-NO_2-Arg-Val-Tyr-OH	4L	165—170 (с разл.)	0	23	0,4%, MeOH	714
Cbzo-Asp-NO_2-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OH	8L	192—196	—28,4	25	1,0%, диметилформамид	508
Cbzo-Asp(NH_2)-CySBz-OH	L-L	200	—	—	—	*472*, 868
Cbzo-Asp-OH	L	168—170	—	—	—	727
└CySBz-Gly-OH	L					
Cbzo-Asp-Glu-OH	L-L	151—152	—	—	—	609
Cbzo-Asp-OH	L	153—157	—	—	—	609
└Glu-OH	L					
Cbzo-Asp(NH_2)-Gly-OH	L	166—169	—	—	—	674
Cbzo-Asp-Gly-OH	L	162—165	—	—	—	*609*, 726, 878
Cbzo-Asp-OH	L	160—162	—	—	—	474, *609*, 726
└Gly-OH						
Cbzo-Asp-His-OH	L-L	171	—	—	—	838
Cbzo-Asp-Tyr-OH	L-L	149—151	—	—	—	609
Cbzo-Asp-OH	L	110	—	—	—	*128*, *378*
└Tyr-OH	L					
Cbzo-Asp-Val-OH	L-L	138—140	0	—	—, 1 экв. водн. NaOH	880
Cbzo-Asp-OH	L	172—173	—24,8	20	2,4%, 1 экв. водн. NaOH	880
└Val-OH	L					
Cbzo-GySBz-Asp(NH_2)-OH	L-L	180—181	—	—	—	674
Cbzo-(CySBz)$_2$-OH	D-L	110	+4,6	26	2%, ацетон	473
Cbzo-(CySBz)$_2$-OH	L-D	111	—4,1	26	2%, »	473
Cbzo-(CySBz)$_2$-OH	L-L	152[б]	—50,6	26	2%, »	390, *473*
Cbzo-CySBz-Glu(NH_2)-OH	L-L	188—189	—	—	—	474
Cbzo-CySBz-Glu(OEt)-OH	L-L	88	—	—	—	474
Cbzo-CySBz-Gly-OH	L	94—96[в, г]	—35	18	2%, EtOH	390, *481*, 606, 759a
Cbzo-CySBz-Gly-CySBz-OH	L-L	148—150	—	—	—	390
Cbzo-CySBz-Gly$_2$-OH	L	129—130	—9,4	20	0,21%, EtOH	390
Cbzo-CySBz-Pro-OH	L-L	—	—80,8	22	3%, $CHCl_3$	393
Cbzo-CySBz-Tyr-OH	L-L	199—201	—17[д, е]	22	3,9%, пиридин	472, 646, 791a, 797, *804*
Cbzo-CySBz-(O-Bz-Tyr)-OH	L-L	170,5	—	—	—	830
Cbzo-CySH-Tyr-OH	L-L	160—162	—	—	—	646
Cbzo-CySBz-Tyr-Ileu-OH	3L	164—16[д, е]	—11	23	3,8%, HOAc	472, 623, 629, 707, 804
Cbzo-CySBz-Tyr-Leu-OH	3L	140	—	—	—	629
Cbzo-CySBz-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	5L	214	—29,0	24	1%, диметилформамид	510, *822*
Cbzo-CySBz-(O-Tos-Tyr)-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	5L	217—219	—33,5	25	1%, диметилформамид	446
Cbzo-CyS-CySBz-OH	L-L	120	—53,0	20	0,13%, EtOH	390
Cbzo-CyS-CySBz-OH	L-L					
Cbzo-CyS-Gly-OH	L	176—177[д]	—129	24	—, MeOH	*176*, 861, 862
Cbzo-CyS-Gly-OH	L					
Cbzo-CyS-Gly$_2$-OH	L	210		—	—	863
Cbzo-CyS-Gly$_2$-OH	L					
Cbzo-CyS-Pro-Leu-Gly-OH	3L	—	—	—	—	865
Cbzo-CyS-Pro-Leu-Gly-OH	3L					

Продолжение табл. 95

Соединение	Конфигурация	Т. пл. °С	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	Литература
Cbzo-CyS-Tyr-OH	L	158	—	—	—	646
Cbzo-CyS-Tyr-OH	L					
Cbzo-CyS-Val-OH	L-D	165—172[n]	—86,8	23	1%, диметилформамид	476, *864*
Cbzo-CyS-Val-OH	L-D					
Cbzo-Glu-Ala-OH	L-L	178—179	—	—	—	881
Cbzo-Glu-OH	L	150—154	—	—	—	605
└Ala-OH	L					
Cbzo-Glu(NH_2)-Ala-OH	L-L	209—213	—	—	—	619
Cbzo-Glu-OH	L	166—168 (с разл.)	—19	20	3,2%, HOAc	58
└(α-NH_2-*n*-But)-Gly-OH	L					
Cbzo-Glu-Asp-OH	L-L	171—174	—	—	—	610
Cbzo-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	L-L	206	—	—	—	868
Cbzo-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-OH	3L	217—219[k]	—	—	—	472, *868*
Cbzo-Glu-CySBz-OH	L-L	183	—40,0	15	1%, EtOH	767
Cbzo-Glu-CySH-Gly-OH	L-L	118—120	—	—	—	481
Cbzo-Glu-OH	L	166 (с разл.)	—	—	—	10
└CySH-Gly-OH	L					
Cbzo-Glu-CySBz-Gly-OH	L-L	191—192	—	—	—	767, *932*
Cbzo-Glu-OH	L	78—82[d]	—23	—	1%, EtOH	475, *606*
└CySBz-Gly-OH	L					
Cbzo-Glu-Glu-OH	L-L	176	—	—	—	*128*, 767, 879
Cbzo-Glu(NH_2)-Glu-OH	L-L	184—185	—	—	—	767
Cbzo-Glu-Glu(OEt)-OH	L-L	157—158	—	—	—	879
Cbzo-Glu-OMe	L	117—118	—9,3	20	6%, MeOH	679
└Glu(OMe)-OH	L					
Cbzo-Glu-Glu-Glu-OH·H_2O	3L	163—165	—17,1	18	1,3%, EtOH	881
Cbzo-Glu(OEt)-Glu-OH	L-L	120—122	—	—	—	933
└CySAc-Gly-OH	L					
Cbzo-Glu-OBz	L	157—159	—13,5	31	1,9%, 95%-ный EtOH	934
└Glu(NH_2)-OH	L					
Cbzo-Glu-Gly-OH	L	143	—	—	—	*726*, 767
Cbzo-Glu-OH	L	159—161	—	—	—	*691*, 693, 726, 767
└Gly-OH						
Cbzo-Glu(NH_2)-Gly-OH	L	180—181[e]	—	—	—	482, *767*, 882
Cbzo-Glu(OEt)-Gly-OH	L	54	—	—	—	482
Cbzo-Glu-Gly_2-OH	L	142	—	—	—	455
Cbzo-Glu-OH	L	124—127	—	—	—	691
└Gly_2-OH						
Cbzo-Glu(NH_2)-His-Phe-OH	3L	208—210 (с разл.)	—31,0	24	0,9%, 1н. HCl	713
Cbzo-Glu(OBz)-His-Phe-NO_2-Arg-OH	4L	185—187 (с разл.)	—2,4	29	1,7%, HOAc	713
Cbzo-Glu(NH_2)-His-Phe-NO_2-Arg-OH	4L	170 (с разл.)	—4,7	29	1,1%, HOAc	713
Cbzo-Glu(OMe)-Glu(NH_2)-OH·$2H_2O$	L-L	184—185	—	—	—	20a
Cbzo-Glu(NH_2)-Glu(NH_2)-OH	L-L	177—178	—	—	—	20a
Cbzo-Glu(OMe)-Glu(NH_2)-Glu(NH_2)-OH	3L	175—180 (с разл.)	—	—	—	20a
Cbzo-Glu-OH	L	132—134[n]	—	—	—	605
└Leu-OH	L					
Cbzo-Glu(NH_2)-Leu-OH	L-L	178—181	—	—	—	619
Cbzo-Glu-Met-OH	L-L	135—136	—	—	—	627
Cbzo-Glu-Phe-OH	L-D	122	—	—	—	709
Cbzo-Glu-Phe-OH	L-L	162	—	—	—	709
Cbzo-Glu(NH_2)-Phe-OH	L-L	180	—	—	—	709
Cbzo-Glu(NH_2)-Ser-OH	L-L	199—202	—	—	—	619
Cbzo-Glu-Tyr-OH	L-L	185	—	—	—	*378*, 894
Cbzo-Glu-(I_2-Tyr)-OH	L-L	188	—	—	—	709
Cbzo-Glu-OH	L	—	—	—	—	894
└Tyr-OH	L					
Cbzo-Glu(NH_2)-Tyr-OH	L-L	183—185	—	—	—	619
Cbzo-Glu-Tyr-Gly-OH	L-L	182	—	—	—	709
Cbzo-Glu-Val-OH	L-L	131—133	—	—	—	610

Продолжение табл. 95

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Glu-OH	L	153—156	—	—	—	605
└Val-OH	L					
Cbzo-Glu(NH_2)-Val-OH	L-L	176—183	—	—	—	619
Cbzo-Gly-Ala-OH	DL	176[o]	—	—	—	495, *731*, *774*, 795
Cbzo-Gly-Ala-OH	D	119[n]	—	—	—	*666*, 705
Cbzo-Gly-Ala-OH	L	119,5[n, p]	—	—	—	495, *666*, 705, 935
Cbzo-Gly-β-Ala-OH	—	140	—	—	—	723, *899*
Cbzo-Gly-Ala_2-OH	L-D	146	—	—	—	703
Cbzo-Gly-Ala_2-OH	L-L	172	—	—	—	703
Cbzo-Gly-Ala-Gly-OH	DL	176[c]	—	—	—	731, *774*
Cbzo-Gly-β-Ala-Gly-OH	—	177—180	—	—	—	899
Cbzo-Gly-Ala-Phe-Gly-OH	L-L	175	—31,7	21	2,5%, $CH_3OCH_2CH_2OH$	495
Cbzo-Gly-(α-NH_2-*n*-But)-OH	DL	158	—	—	—	774
Cbzo-Gly-NO_2-Arg-OH	L	145	+3,2	25	1,1%, HOAc	*491*, *492*, 541
Cbzo-Gly-Asp(NH_2)-OH	L	129,5—131	—	—	—	674
Cbzo-Gly-CyS-OH	L	176—180 (с разл.)	—136	25	2,0%, H_2O	876
H-CyS-OH	L					
Cbzo-Gly-CyS-OH	L	142	—	—	—	*936*, 937
Cbzo-Gly-CyS-OH	L					
Cbzo-Gly-CySBz-OH	DL	141—143	—	—	—	759a
Cbzo-Gly-CySBz-OH	L	120—121	—24	18	1,2%, EtOH	390, *759a*
Cbzo-Gly-Glu-OH	L	160—162	—	—	—	*444*, 923
Cbzo-Gly-Glu-Gly-OH	L	98—100	—	—	—	878
Cbzo-Gly-Glu-Tyr-OH	L-L	173	—	—	—	709
Cbzo-Gly_2-OH	—	178—179	—	—	—	128, 495, 723, *768*, 769a, 774
Cbzo-Gly-Gly-Ala-OH	DL	184	—	—	—	910
Cbzo-Gly_2-β-Ala-OH	—	187—189	—	—	—	899
Cbzo-Gly_2-Ala-Gly_2-OH	DL	192	—	—	—	910
Cbzo-Gly_2-CySBz-OH	L	161—162	—	—	—	390
Cbzo-Gly_2-Glu(OEt)-OH	L	144—146	—	—	—	893
Cbzo-Gly_3-OH	—	196	—	—	—	495, 723, 774, *878*
Cbzo-Gly_4-OH	—	230	—	—	—	*723*, 741, 774, 806, *878*
Cbzo-Gly_3-Leu-Gly-OH	L	225	—	—	—	878
Cbzo-Gly_2-Phe-OH	DL	129	—	—	—	*731*, 812б
Cbzo-Gly_2-Phe-OH	L	146	—	—	—	665
Cbzo-Gly_2-Pro-OH	L	137	—	—	—	170
Cbzo-Gly-His-OH	L	175	—	—	—	837
Cbzo-Gly-His-Tyr-OH	L-L	223—224 (с разл.)	—	—	—	537
Cbzo-Gly-Hypro-OH	L	124—124,5	—	—	—	169
Cbzo-Gly-allo-Hypro-OH	L	187—188	—	—	—	657
Cbzo-Gly-(α-NH_2-isoBut)-OH	—	154	—	—	—	466
Cbzo-Gly-Ileu-OH	DL	108	—	—	—	*723*, *774*
Cbzo-Gly-Ileu-OH	L	114—115	+14,3	22	5%, EtOH	938
Cbzo-Gly-Leu-OH	DL	125—126	—	—	—	*506*, 723, 759a, 774
Cbzo-Gly-Leu-OH	D	101—102	—	—	—	469
Cbzo-Gly-Leu-OH	L	143—144[m]	—9,5	25	5%, EtOH	723, *758*, 769a, 812b, 938
Cbzo-Gly-Leu-Glu-OH	DL	161	—	—	—	495
Cbzo-Gly-Leu-Gly-OH	L	110	—14,7	19	4%, диметилформамид	*800*, 811, 812b
Cbzo-Gly-Leu-Gly_2-Leu-Gly-OH	L-L	155—158	—	—	—	812b
Cbzo-Gly-Leu-Gly-Leu-Gly-OH	L-D	—	—4,0	27	4,5%, EtOH	812a
Cbzo-Gly-Leu-Gly-Leu-Gly-OH	L-L	206—207	—	—	—	800, *811*
Cbzo-Gly-Leu_2-OH	L-D	144—145	—	—	—	694
Cbzo-Gly-Leu_2-OH	L-L	137	—	—	—	694
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OH	DL	121	—	—	—	723
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OH	L	75	—	—	—	613a, 667

Продолжение табл. 95

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Gly-Lys)-OH	DL	134	—	—	—	723
Cbzo-Gly-Met-OH	DL	124	—		—	769, *774*
Cbzo-Gly-Met-OH	D	107—109	—	—	—	627
Cbzo-Gly-Met-OH	L	110—111	—	—	—	627
Cbzo-Gly-Phe-OH	DL	161	—	—	—	613a, 712, 721, 723, 757, 759, *774*, 795, 913, 939
Cbzo-Gly-Phe-OH	D	—	—39,0	25	—, EtOH	913
Cbzo-Gly-Phe-OH	L	126	+41,9	14	2,5%, EtOH	*495*, 613a 712, 800, 913, 923
Cbzo-Gly-Phe-Ala-OH	L-L	165—166	—8,6	22	2%, MeOH	611a
Cbzo-Gly-Phe-Gly-OH	DL	141—142	—	—	—	*712*, 800, 8126
Cbzo-Gly-Phe-Gly-OH	L	162,5—163	—14,6	21	1,3%, EtOH	*495*, 507, 712, 800
Cbzo-Gly-Pro-OH	L	156	—	—	—	170, *940*
Cbzo-Gly-Pro-OH	DL	129—130	—	—	—	170, *705*
Cbzo-Gly-Pro-Gly-OH	DL	133,5	—	—	—	170
Cbzo-Gly-Pro-Gly-OH	L	144—145	—80,9	21	1%, H_2O	170, *823*, 941
Cbzo-Gly-Ser-OH	L	124	—	—	—	631
Cbzo-Gly-(O-Bz-Ser)-OH	DL	136	—	—	—	829
Cbzo-Gly-Try-OH	L	142	—	—	—	505
Cbzo-Gly-Tyr-OH	L	107	—	—	—	700
Cbzo-Gly-(O-Bz-Tyr)-OH	L	142	—	—	—	830
Cbzo-Gly-Tyr-Gly-OH	L	134	—	—	—	931
Cbzo-Gly-Val-OH	DL	146[v]	—	—	—	506, *721*, *723*, *731*, *774*, 939
Cbzo-Gly-Val-Gly-OH	DL	193	—	—	—	942
Cbzo-His-Ala-OH	L-L	211—214 (с разл.)	—6	22	1%, 50%-ный EtOH	695
Cbzo-His-Leu-OH	L-L	185—188	—7	22	1%, EtOH	695
Cbzo-His-Phe-OH	L-L	230—231	—	—	—	*621*, 713
Cbzo-His-Phe-NO_2-Arg-OH	3L	222—223	—13,8	26	8,5%, CH_3COOH	713
Cbzo-His-Tyr-OH·$^1/_2H_2O$	L-L	232—233	—	—	—	621
Cbzo-Hypro-Ala-OH	L-L	194—195	—	—	—	642
Cbzo-Hypro-Asp-OH	L-L	166—167	—	—	—	642
Cbzo-Hypro-Glu-OH	L-L	64,5—66,5	—	—	—	642
Cbzo-Hypro-Gly_2-OH	L	159,5—160	—53,9	21	1%, H_2O	823
Cbzo-Hypro-Leu-OH	L-L	146—147	—	—	—	642
Cbzo-Hypro-Phe-OH	L-L	134—135	—	—	—	642
Cbzo-Hypro-Tyr-OH	L-L	134—135	—	—	—	642
Cbzo-Ileu-Glu(NH_2)-OH	L-L	184—185	—18,8	21	1,3%, 0,5 н. $KHCO_3$	438
Cbzo-Ileu-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	3L	203—204	—35,5	21	1%, 0,5 н. $KHCO_3$	438
Cbzo-Ileu-Phe-OH	L-L	166—167	—	—	—	456
Cbzo-Leu-Ala-OH	L-L	152—153	—25	27	1%, EtOH	*467*, 915
Cbzo-Leu-Ala-Val-Phe-Gly-OH	4L	237—242 (с разл.)	—44,4	22	2,3%, HOAc	915
Cbzo-Leu-Asp(NH_2)-OH	L-L	162—163	—	—	—	672, *674*
Cbzo-Leu-Glu-Leu-OH·$^1/_2H_2O$	3L	105	—	—	—	881
Cbzo-Leu-Gly-OH	DL	162—163	—	—	—	613a, *805*, 812a
Cbzo-Leu-Gly-OH	D	116—117	+25,9	22	2%, EtOH	812a
Cbzo-Leu-Gly-OH	L	115	—	—	—	495, 613a, 800, 805, *878*
Cbzo-Leu-Gly_2-OH	D	144	—	—	—	878
Cbzo-Leu-Gly_2-OH	L	144	—	—	—	179, 611a, *878*
Cbzo-Leu-Gly_3-OH	L	158—159	—	—	—	611a
Cbzo-Leu-(1-Bz-His)-OH	L-L	177—178	—	—	—	484
Cbzo-Leu-Ileu-OH	L-D	70—71	—29,6	25	1%, EtOH	622
Cbzo-Leu-Ileu-OH	L-L	101—101,5	—12,0	27	1%, EtOH	622
Cbzo-Leu-Leu-OH	L-L	114—116[ф]	—30,8	23	5%, MeOH	622, *834*
Cbzo-Leu-Phe-OH	L-D	114—115[x]	—39,5	23	1%, EtOH	423, *622*, 719
Cbzo-Leu-Phe-OH	L-L	119—121	—	—	—	622

Продолжение табл. 96

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Leu-(O-Bz-Tyr)-OH	L-L	174	—	—	—	830
Cbzo-Leu-Val-OH	L-L	108—109	—15,0[v]	22	1%, EtOH	*622*, 718, 915a
diCbzo-Lys-Ala-OH	L-D	159	—	—	—	667
diCbzo-Lys-Ala-OH	L-L	150	—	—	—	667
diCbzo-Lys-NO_2-Arg-OH	L-L	142—145	—6,2	27	2,6%, пиридин	491
diCbzo-Lys-Glu-OH	L-L	130	—	—	—	626
diCbzo-Lys-Gly-OH	DL	127	—	—	—	723
diCbzo-Lys-Gly-OH	L	158—159	—11,4	16	5%, MeOH	613a, 667, *831*, *834*
diCbzo-Lys-His-OH	L-L	157—162	—	—	—	626
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OH	L-D	146	—	—	—	667
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OH	L-L	145—147	—1,5	20	5%, HOAc	667, *715*
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)$_2$-OH	3L	173—174	—	—	—	715
diCbzo-Lys-(N^{ε}-Cbzo-Lys)$_3$-OH	4L	162—163	—	—	—	715
diCbzo-Lys-Tyr-OH	L-L	141—142	+6,0	17	5%, MeOH	834
diCbzo-Lys-Val-OH	L-L	70—73	—7,0	22	2,4%, EtOH	507
diCbzo-Lys-Val-Phe-Gly-OH	3L	173—175	—22,0	24	2,4%, HOAc	507
Cbzo-Met-Glu-OH	L-L	138—140	—13,5	28	1%, EtOH	444
Cbzo-Met-Gly-OH	DL	141—143	—	—	—	627
Cbzo-Met-Gly-OH	D	129—130	—	—	—	627
Cbzo-Met-Gly-OH	L	135—136	—16,0	26	2,2%, EtOH	*444*, 627
Cbzo-Met-Gly$_2$-OH	L	137—138	—	—	—	627
Cbzo-Met$_2$-OH	L-L	118—120	—18,4	20	2%, MeOH	*490*, 627
Cbzo-Met-Tyr-OH	L-L	137—138,5	—	—	—	627
diCbzo-Orn-Leu-OH·$2H_2O$	L-L	63—64	—14	17	4,2%, MeOH	373
Cbzo-Phe-Ala-OH	L-L	—	—11,0	22	2%, EtOH	611a
Cbzo-Phe-NO_2-Arg-OH	L-L	185—186[v]	+1,5	27	1,6%, пиридин	*491*, 541
Cbzo-Phe-Glu-OH	L-L	180	—	—	—	709

Cbzo-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	3L	223—225	—26,0	21	0,1%, 0,5 н. $KHCO_3$	440
Cbzo-Phe-Gly-OH	DL	158—159	—	—	—	943
Cbzo-Phe-Gly-OH	D	150—151	+9,7	25	—, HOAc	313
Cbzo-Phe-Gly-OH	L	154	—10,2	18	4,3%, HOAc	313, *495*, 712, 916
Cbzo-Phe-Gly$_2$-OH	L	109	—	—	—	665
Cbzo-Phe-Gly$_3$-OH	L	114—115	—	—	—	665
Cbzo-Phe-Gly-Phe-OH	L-L	150—151	—	—	—	665
Cbzo-Phe-His-OH	L-L	198—200 (с разл.)	—	—	—	456
Cbzo-Phe-His-Leu-OH	3L	—	+30,5	24	1%, HOAc	484
Cbzo-Phe-(1-Bz-His)-OH	L-L	140—141	—	—	—	484
Cbzo-Phe-(1-Bz-His)-Asp-OH	3L	193—196 (с разл.)	—	—	—	484
Cbzo-Phe-(1-Bz-His)-Leu-OH	3L	163—165	—	—	—	484
Cbzo-Phe-Pro-OH	L-L	109,5—110,5	—	—	—	642
Cbzo-Pro-NO_2-Arg-OH	L-L	197—198	—32,7	30	3,9%, MeOH	491
Cbzo-Pro-Gly-OH	DL	125	—	—	—	170
Cbzo-Pro-Gly-OH	L	122—123	—63,2	21	5%, MeOH	170, *613a*
Cbzo-Pro-Gly$_2$-OH	L	134—135	—56,0	21	1%, H_2O	823
Cbzo-Pro-Gly-Phe-OH	L-L	160	—	—	—	611a
Cbzo-Pro-Hypro-OH	L-L	217—218,5	—	—	—	642
Cbzo-Pro-Leu-Gly-OH	L-L	163,5—164	—85,2	23,5	2%, EtOH	865
Cbzo-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-OH	L-L	—	—22,6	21	1%, $CHCl_3$	393
Cbzo-Pro-Phe-OH	L-L	126—127	—49	22	2,5%, $CHCl_3$	638a
Cbzo-Pro$_2$-OH	L-L	186—187	—	—	—	168
Cbzo-Pro-Val-OH	L-L	134—135	—58	18	2,8%, MeOH	373
Cbzo-Ser-Ala-OH	L-L	161—162	—	—	—	501
Cbzo-Ser-Ala-Glu-OH	3L	192—193	—	—	—	631
Cbzo-Ser-Glu-OH	L-L	152—153	—	—	—	501
Cbzo-Ser-Gly-OH	L	131	—	—	—	501
Cbzo-Ser-Gly-Glu-OH	L-L	140—141[vi]	—	—	—	444, *631*
Cbzo-(O-Bz-Ser)-His-OH	L-L	164	+20,7	13	1%, HOAc	828
Cbzo-(O-Bz-Ser)-His-Leu-OH	3L	172—173	—	—	—	828
Cbzo-Ser-Met-OH	L-L	128—129	—24,2	26	3,2%, $NaHCO_3$	444

Продолжение табл. 95

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Cbzo-Ser-Met-Glu-OH	3L	117—121	—22,5	25	1%, EtOH	444
Cbzo-Ser_2-OH	L-L	186—187	—	—	—	501, *631*
Cbzo-Ser-Tyr-OH	L-L	189—190	+37,4	24	1,9%, EtOH	444, 537
Cbzo-Ser-Tyr-Glu-OH	3L	—	—23,5	25	1%, EtOH	444
Cbzo-Ser-Tyr-Met-Glu-OH	4L	—	—22,7	25	1%, HOAc	444
Cbzo-Ser-Tyr-Ser-OH	3L	182	—10,5	20	1,9%, MeOH	471a
Cbzo-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-OH	5L	—	—13,2	25	1%, HOAc	444
Cbzo-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu(OBz)-OH	5L	173 [aa]	—23	23	1,0%, MeOH	471a
Cbzo-Try-Ala-OH	L-L	155	—13,2	21	4%, EtOH	*495*, 505
Cbzo-Try-Gly-OH	L	158—159	—	—	—	505, *791*
Cbzo-Try-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OH	L-L	130,5—131,5	0	—	—, HOAc	915
Cbzo-Try-Pro-OH	L-L	128—130	—	—	—	505
Cbzo-Try_2-OH	L-L	207	—	—	—	505
Cbzo-Try-Tyr-OH	L-L	135—140 (с разл.)	—	—	—	505
Cbzo-Tyr-CySBz-OH	L-L	166 [a]	—	—	—	*646*, 917
Cbzo-Tyr-CySH-OH	L-L	120	—	—	—	646
Cbzo-Tyr-CyS-OH | Cbzo-Tyr-CyS-OH	L-L L-L	150 (с разл.)	—	—	—	646
Cbzo-Tyr-Gly-OH	L	100	—	—	—	700
Cbzo-(O-Bz-Tyr)-Gly-OH	L	163,5	—	—	—	830
O,N-diCbzo-Tyr-Gly-OH	L	168	—	—	—	826
Cbzo-Tyr-Gly_2-OH	L	213—215	—	—	—	931
Cbzo-Tyr-His-OH	L-L	199	—	—	—	537
O,N-diCbzo-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	4L	219—220	—21,0	21	1%, диметилформамид	822
Cbzo-(O-Tos-Tyr)-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	4L	218—220	—16,6	25	1%, диметилформамид	446
Cbzo-Tyr-Ser-OH	L-L	148	+8,1	20	1,8%, EtOH	471a
Cbzo-Tyr_2-OH	L-L	148	—	—	—	378
Cbzo-$(O\text{-}Ac\text{-}Tyr)_2$-OH	L-L	209—210	—	—	—	637
Cbzo-Tyr_3-OH	3L	182—183	—	—	—	637
Cbzo-Tyr_4-OH	4L	224—225 (с разл.)	—	—	—	637
Cbzo-Val-Glu-Val-OH·$^1/_2H_2O$	3L	245	—	—	—	881
Cbzo-Val-Gly-OH	DL	160—162 [aa]	—	—	—	380, *900*
Cbzo-Val-Gly-OH	L	146	—24,2	22	5%, MeOH	613a
Cbzo-Val-Gly_2-OH	DL	178—179	—	—	—	380
Cbzo-Val-His-OH·HCl	L-L	122—125	—23	24	4,2%, H_2O	638a
Cbzo-Val-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-OH	L-L	193—195	—11,0	20	0,9%, HOAc	373
Cbzo-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-OH	L-L	150	—	—	—	423
Cbzo-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro-OH	3L-D-L	157	—53,9	25	1%, HOAc	423
Cbzo-$[Val\text{-}(N^{\delta}\text{-}Tos\text{-}Orn)\text{-}Leu\text{-}Phe\text{-}Pro]_2$-OH	$[3L\text{-}D\text{-}L]_2$	223—224	—103,4	27	0,7%, MeOH	423
Cbzo-$[Val\text{-}(N^{\delta}\text{-}Tos\text{-}Orn)\text{-}Leu\text{-}Tyr\text{-}Pro]_2$-OH	$[3L\text{-}D\text{-}L]_2$	230—235 (с разл.)	—113,4	25	0,5%, MeOH	679a
Cbzo-Val-Tyr-OH	L-L	161—163	+26	22	4,0%, пиридин	638a
Cbzo-Val-Tyr-Ileu-His-OH	4L	212—215	+8,4	25	1,2%, диметилформамид	508
Cbzo-Val-Tyr-Val-OH	3L	222—224	—26	23	4,2%, EtOH	638a
Cbzo-Val-Tyr-Val-His-OH	4L	236—238 (с разл.)	—10	—	2,1%, HOAc	638a
Cbzo-Val_2-OH	L-D	184—185	—21,3	25	1,5%, 1 н. KOH	625
Cbzo-Val_2-OH	L-L	139,5—140	—36,6	20	3,2%, 1 н. KOH	625
n-Нитрокарбобензоксипроизводные (*n*-NO_2-Cbzo)						
n-NO_2-Cbzo-Arg-Glu-OH	L-L	141—143	—15,9	26	1%, 6 н. HCl	363
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-Glu-OH	L-L	136—137	+6,6	22	3,2%, пиридин	513
n-NO_2-Cbzo-Arg-Gly-OH·H_2O	L	128—129	+11,3	22	1,8%, пиридин	513
n-NO_2-Cbzo-Arg-Leu-OH·$3H_2O$	L-L	167,5—169	—6,3	24	0,9%, диоксан—H_2O (1 : 1)	363
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-Leu-OH	L-L	193—194	—	—	—	513
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-Phe-OH	L-L	255—256	+14,0	22	1,5%, пиридин	513
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-(β-Phser)-OH	L-L	219—220	+5,3	22	1,2%, пиридин	513
n-NO_2-Cbzo-NO_2-Arg-Tyr-OH	L-L	239—240	+22,4	22	1,5%, пиридин	513
n-NO_2-Cbzo-CyS-Gly-OH | *n*-NO_2-Cbzo-CyS-Gly-OH	L L	111—113	—79,8	25	1,3%, ацетон	512

Продолжение табл. 95

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
n-NO_2-Cbzo-CyS-Phe-OH | *n*-NO_2-Cbzo-CyS-Phe-OH	L-L L-L	118—120	—49,1	25	2,5%, ацетон	512
n-NO_2-Cbzo-Gly-Leu-OH	L	118—120,5	—15,6	27	1%, 1н. NaOH	462
n-NO_2-Cbzo-Leu_2-OH	L-L	89,5—91	—33,3	24	1%, 1н. NaOH	462
Карбо-трет-бутилоксипроизводные (C-*t*-BuO)						
C-*t*-Buo-Ala-Gly-OH	DL	168—170	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Gly-Leu-OH	L	112—116	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Gly-Met-OH	DL	138—140	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Gly-Phe-OH	DL	131, 5—132,5	—	—	—	464, *465*
C-*t*-Buo-Gly-Try-OH	DL	157—159	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Leu_2-OH	L-L	153—155	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Met-Glu(OBz)-OH	L-L	—	—13,3	20	2%, MeOH	471*a*
C-*t*-Buo-Met-Gly-OH	DL	138—141	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Phe-β-Ala-OH	DL	173—175	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Phe-Gly-OH	DL	180—181	—	—	—	464
C-*t*-Buo-Val-Gly-OH	DL	132—135	—	—	—	464
Карбоциклопентилоксипроизводные (C-*cy*-Peo)						
C-*cy*-Peo-Ala-Gly-OH	DL	158—159	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-β-Ala-Phe-OH	DL	140—145	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Gly-β-Ala-Leu-Thr-OH	L-D	158—164	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Gly-Phe-OH	DL	129—131	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Ileu-Gly-OH	L	135—138	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Met-Gly-OH	DL	150—153	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Nval-Gly-OH	DL	125—128	—		—	464
C-*cy*-Peo-Pro-Gly-OH	DL	190—192	—		—	464
C-*cy*-Peo-Val-Gly-OH	DL	155—158	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Val-Leu-Gly-OH	L-L	180—189	—	—	—	464
C-*cy*-Peo-Val-Ser-OH	L-L	183—186	—	—	—	464
Карбоциклогексилоксипроизводные (C-*cy*-Hexo)						
C-*cy*-Hexo-Gly-Leu-Gly-OH	L	191—193	—	—	—	464
C-*cy*-Hexo-Phe-Gly-OH	DL	160—161	—	—	—	464
Формильные производные (Form)						
Form-Phe-Gly-OH	L	—	+15,1	28	2,2%, 0,5 н. Na_2CO_3	586
Form-Val-Gly-OH	L	207—208	—50,9	28	1,3%, 70%-ный EtOH	586
Form-Val-Phe-OH	L-L	203—204	—31,4	28	0,8%, MeOH	586
n-Метоксибензилоксикарбонильные производные (*n*-Meo-Cbzo)						
n-Meo-Cbzo-Gly-Met-OH	DL	137—139	—	—	—	464
n-Meo-Cbzo-Met-Gly-OH	DL	122—125	—	—	—	464
Фталильные производные (Phth)						
Phth-Ala-Asp(NH_2)-OH	L-L	201—202	—	—	—	674
Phth-CySBz-Gly-OH	L	164—165	—	—	—	533
Phth-Glu-OH └Gly-OH	DL	206—207	—	—	—	527, *533*
Phth-Glu-OH └Gly_2-OH·H_2O	DL	165—167	—	—	—	883
Phth-Glu-OH └Gly_2-OH	DL	186—188 (с разл.)	—	—	—	883
Phth-Glu-OH └Tyr-OH	L L	207—209	—	—	—	535
Phth-Gly-Ala-OH	DL	223—224	—	—	—	*536*, 731
Phth-Gly-Ala-OH	L	195	—	—	—	797
Phth-Gly-Asp(NH_2)-OH	DL	208—209	—	—	—	674, *685*, 798
Phth-Gly-Glu-OH·H_2O	L	194—196	+4,7	22	0,1%, 96%-ный EtOH	677
Phth-Gly_2-OH	—	231—232	—	—	—	518, 522, *536*, 752, 797
Phth-Gly-His-OH	L	258	—	—	—	537
Phth-Gly-Leu-OH	L	104—106	—	—	—	791a
Phth-Gly-Phe-OH	DL	197—199	—	—	—	518, *740*, 752
Phth-Gly-Ser-OH	DL	199	—	—	—	685

Продолжение табл. 95

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Phth-Gly-Tyr-OH	L	235—237	—	—	—	535
Phth-Leu-Asp(NH_2)-OH	L-L	210—212	—	—	—	674
Phth-Leu-Glu(NH_2)-OH	L-L	123—126	—	—		674
Phth-Leu-Gly-OH·$2H_2O$	L	164—165	—37,8	20	2,8%, 1 н. Na_2CO_3	536
Phth-Phe-Gly-OH	DL	163,5—167[бб]	—	—	—	495
Phth-Phe-Gly-OH	L	186—187[вв]	—140	20	1,7%, EtOH	*495*, 522
Phth-Phe-Gly_2-OH	DL	244—245,5	—	—	—	518
Phth-Thr-Phe-OH	L-L	207—208	+23,2	27	1,7%, EtOH	524
Phth-Val_2-OH	L-L	141—142,5	+59,3	27	2,8%, $CHCl_3$	543a
Phth-Val_2-OH	L-D	137—139	+48,4	25	2,7%, $CHCl_3$	543a
Phth-Val_2-OH	D-L	137,5—139,5	—49,6	25	3,2%, $CHCl_3$	543a
Phth-Val_2-OH	D-D	141—142,5	—59,2	25	2,4%, $CHCl_3$	543a
п-Толуолсульфонильные производные (Tos)						
Tos-Ala-Gly-OH	DL	149—150	—	—	—	127, 712,
Tos-Ala-Leu-OH	L-L	186	—30,5	20	—, EtOH	794, *944*
Tos-(α,γ-diNH_2-*n*-But)-OH	L	219—221 (с разл.)	—18,4	21	3%, 1 н. HCl	127
Tos-Arg-Gly-OH·$1^1/_2H_2O$	L	—	—36,8	21	1,3%, 10%-ная H_2SO_4	429 429
Tos-Arg-Gly-OH·$2H_2O$	DL	265—266 (с разл.)	—	—	—	429
Tos-(*гомо*-Arg)-Gly-OH	L	262—264 (с разл.)	—33,2	21	1,7%, 1 н. HCl	429
Tos-CySBz-Tyr-OH	L-L	155—156	+28,2	18	2,1%, EtOH	400, *432*
Tos-CySBz-Tyr-Gly-OH·H_2O	L-L	125	—	—	—	400
Tos-CySBz-Tyr-Phe-OH	3L	205—206	—37,5	23	1%, MeOH	482a
Tos-CySBz-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH·$1^1/_2H_2O$	5L	203—205	+4,4	21	2,1%, диметилформамид	432
Tos-CySBz-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	5L	203—204	+4,4	21	2%, диметилформамид	88
Tos-CySBz-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-OH	6L	213—214	—24,4	24	0,9%, 90%-ный тетрагидрофуран	482a
Tos-CySBz-Tyr-Ileu-OH·H_2O	3L	119—123	—	—	—	400
Tos-CySBz-Tyr-Leu-OH	3L	93—101	—	—	—	400
Tos-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	L-L	197—198[гг]	—11,4	21	2,1%, 0,5 н. $KHCO_3$	*435*, 868
Tos-Glu (NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-OH·$^1/_2H_2O$	3L	181—183	—	—	—	868
Tos-Glu(NH_2)-CySBz-OH	L-L	183	+13,6	21	2%, 0,5 н. $KHCO_3$	432a
Tos-Glu-Gly-OH	L	217	—	—	—	890
Tos-Glu(NH_2)-Gly-OH	L	205	—23,4	21	5,2%, 0,5 н. $KHCO_3$	*701*, 890
Tos-Glu-OH └Gly-OH	D	166—167	—	—		433
Tos-Glu-OH └Gly-OH	L	171—172	—	—	—	890
Tos-Glu-NH_2 └Gly-OH	L	171	—27,3	21,5	1,7%, 0,5 н. $KHCO_3$	701
Tos-Glu-Tyr-OH	L-L	218—219	—	—	—	890
Tos-Glu-OH └Tyr-OH	L	120—130[дд]	—	—	—	890
Tos-Gly-Ala-OH	L DL	167	—	—	—	127
Tos-Gly_2-OH	—	178,5	—	—	—	*127*, 794
Tos-Gly_2-Glu(OBz)-OH	L	101—103	+9,4	22	3,7%, EtOH	676
Tos-Gly-Leu-OH·H_2O	DL	87	—	—	—	127
Tos Gly-Leu-OH	DL	81—82	—	—	—	127
Tos-Gly-Phe-OH	DL	144—145	—	—	—	495
Tos-Gly-Phe-OH	L	160,5	+50,3	16	2,6%, EtOH	495
Tos-Gly-Phe-Glu(OBz)-OH	L-L	146—147	—20,9	16	2%, EtOH	676
Tos-Gly-Phe-Gly-OH	DL	192	—	—	—	495
Tos-Gly-Pro-OH	L	183—184	—71	27	1%, 0,5 н. $KHCO_3$	944
Tos-Ileu-Glu(NH_2)-OH	L-L	203—204	—3,1	21	1,1%, 0,5 н. $KHCO_3$	438
Tos-Ileu-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	3L	223	—30,7	21	1,8%, 0,5 н. $KHCO_3$	438

Продолжение табл. 95

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
Tos-Ileu-Gly-OH	L	—	—26,7	21	1,1%, 0,5 н. $KHCO_3$	438
Tos-Ileu-Leu-OH	L-L	163—165	—24,7	21	1,1%, 0,5 н. $KHCO_3$	438
Tos-Leu-Gly-OH	DL	121,5	—	—	—	127
Tos-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Gly-OH	L	120—121[cc]	—	—	—	429
Tos-Lys-Gly-OH·H_2O	L	242—244 (с разл.)	—29,8	23	2,3%, 1 н. HCl	429
Tos-Orn-Gly-OH	DL	220—222 (с разл.)	—	—	—	429
Tos-Orn-Gly-OH	L	205 (с разл.)	—31,4	22	1,2%, 1 н. HCl	429
Tos-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-Gly-OH	DL	155—156	—	—	—	429
Tos-(N^{δ}-Cbzo-Orn)-Gly-OH	L	164,5—165,5	—	—	—	429
Tos-Phe-Arg-OH	L-L	256	—	—	—	471a
Tos-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	3L	193—195	—26,0	21	2%, 0,5 н. $KHCO_3$	*440*, 822
Tos-Pro-Hypro-OH	L-L	224—224,5	—198	36	1%, 0,5 н. $KHCO_3$	944
Tos-Val-Gly-OH	DL	174—175	—	—	—	944
Трифторацетильные производные (TFA)						
TFA-Gly_2-OH	—	185	—	—	—	570, *573*
TFA-Gly_3-OH	—	233—235 (с разл.)	—	—	—	814
TFA-Gly-Phe-OH	DL	152,5—155	—	—	—	569
Трифенилметильные производные (Tri)						
Tri-Ala-Gly-OH	L	180 (с разл.)[mm]	—	—	—	548
Tri-(CyS-Tri)-Pro-Leu-OH	3L	120 (с разл.)	+80,0	20	2%, $CHCl_3$	673
Tri-(CyS-Tri)-Tyr-OH	L-L	146—148	+87,5	20	2%, $CHCl_3$	673
Tri-(CyS-Tri)-Tyr-Ileu-OH	3L	150—155	+51	20	2%, $CHCl_3$	673
Tri-Glu-OH	L	—	—	—	—	549
└(CyS-Tri)-Gly-OH	L					
Tri-Glu(NH_2)-Gly-OH	L	130	+25	20	1%, EtOH	790
Tri-Glu-NH_2 └Gly-OH	L	175	+55	—	1%, EtOH	790
Tri-Glu-Tyr-OH	L-L	130	+19	25	1%, 1 экв. NaOH в 75% MeOH	675
Tri-Gly_2-OH	—	180[nn]	—	—	—	*545*, 546, 548, 806
Tri-Gly_3-OH	—	205[uu]	—	—	—	806
Tri-Gly_4-OH	—	—	—	—	—	806
Tri-Gly-(1-Bz-His)-OH	L	198—201	—	—	—	484
Tri-Gly-(N^{ε}-Tri-Lys)-OH	L	130	+22,0	20	2%, $CHCl_3$	550
Tri-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OH	L	110	—7,1	21	2,0%, пиридин	471a
Tri-Gly-(N^{ε}-Tri-Lys)-Glu-OH	L-L	130—140	+47	20	2%, $CHCl_3$	550
Tri-Gly-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-Pro-Val-OH	3L	100 (с разл.)	—35,5	22	2,2%, MeOH	471a
Tri-Gly-Met-OH	DL	111	—	—	—	546
Tri-Gly-Phe-OH	L	210—215 (с разл.)[xx]	—	—	—	548
Tri-Gly-Phe-Gly-OH	DL	130—132	—	—	—	812б
Tri-Gly-Phe-Gly-OH	L	205—210 (с разл.)	—	—	—	548
N,N′-di-Tri-His-Gly-OH	L	155—160	+17	—	2%, $CHCl_3$	789
N,N′-di-Tri-His-Phe-OH	L-L	154 (с разл.)	—11,0	20	1,1%, $CHCl_3$	471a
N,N′-di-Tri-His-Phe-Arg-Try-OH	4L	200—210 (с разл.)	—21	22	1,1%, диметилформамид	471a
Tri-(N^{ε}-Tri-Lys)-Glu-OH	L-L	150	+4	20	2%, EtOH	550
Tri-Val-(N^{ε}-Tos-Lys)-Leu-Phe-Pro-OH	3L-D-L	138	—36	22	1,4%, MeOH	626a
Tri-[Val-(N^{σ}-Tos-Lys)-Leu-Phe-Pro]$_2$-OH	[3L-D-L]$_2$	137—138	—62	22	1,2%, MeOH	626a
Tri-[Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro]$_2$-OH	[3L-D-L]$_2$	133—134	—	—	—	719
о-Нитрофеноксиацетильные производные (*о*-NO_2-Phoac)						
о-NO_2-Phoac-Gly-Ala-Leu-OH	L-L	184—186	—	—	—	494
о-NO_2-Phoac-Gly_2-OH	—	209,5—213,5 (с разл.)	—	—	—	494

Продолжение табл. 95

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
o-NO_2-Phoac-Gly₃-OH	—	215—217 (с разл.)	—	—	—	494
o-NO_2-Phoac-Phe-Leu-OH	L-L	161—164,5	—23,0	23	0,9%, EtOH	494

а Т. пл. 56—58° [903].
б Т пл. 147°, $[\alpha]_D^{19}$ −39,0°(0,2%, в EtOH) [390].
в Т. пл. 80—82°, $[\alpha]_D$ −35°(2%, в EtOH) [606].
г Т. пл. 153—154°, $[\alpha]_D^{20}$ −11,4°(2,6%, в EtOH) [390].
д $[\alpha]_D$ −6,4°(1,4%, в 0,5 н. $KHCO_3$) [797].
е $[\alpha]_D^{22}$ +5,5°(2%, в 1 н. NaOH) [472].
ж Т. пл. 185—186°, $[\alpha]_D^{24}$ −10,1°(3,9%, в HOAc) [623].
з Т. пл. 161—163° [861]; т. пл. 182—183° [862].
и Т. пл. 145—147°, $[\alpha]_D^{29}$ −42,5°(в MeOH) [476].
к Т. пл. 190° [472].
л Т. пл. 125° [475].
м Т. пл. 172—173° [482].
н Диморфная форма плавится при 83—85°[605].
о Т. пл. 183° [495].
п Т. пл. 135° [705].
р Т. пл. 133°, $[\alpha]_D^{19}$ −9,5°(4,4%, в EtOH) [495].
с Т. пл. 145° [731].
т Диморфная форма плавится при 100—101°[758]; $[\alpha]_D^{15}$ −17,0°. (в 1 н. NaOH) [723].
у Т. пл. 127—128° [939].
ф Т. пл. 98—101°; $[\alpha]_D^{22}$ −24,7(1%, в EtOH) [622].
х Т. пл. 76° [149]; т. пл. 64—66° [719].
ц $[\alpha]_D^{23}$ −18,7°(4%, в EtOH) [718]; $[\alpha]_D^{18}$ −18,5°(1%, в EtOH) [945a].
ч Т. пл. 171,5—173° [541].
ш Т. пл. 106—107° [444]
щ Т. пл. 165° [505].
э Диморфная форма плавится при 132—133° [917].
аа Т. пл. 138—139° [380].
бб Диморфная форма плавится при 128—133°[495].
вв Т. пл. 183—185°, $[\alpha]_D^{18}$ −148,5°(1,5%, в EtOH) [522].
гг Т. пл. 207—209° [868].
дд Температура плавления не постоянна и иногда выше 140°.
ее Диморфная форма плавится при 140—141°.
жж Размягчается при 115—120°.
зз Т. пл. 180°[546]; т. пл. 168°[806].
ии Плавится при 114—115° и затвердевает при 138°.
кк Размягчается при 80—90°.
лл Размягчается при 90°.

зависит от степени стерического экранирования, вызванного боковой цепью соответствующего аминокислотного остатка. Так, например, попытка получить крайне стерически затрудненный DL-*трет*-лейцинамид (IV) путем обработки исходного хлоргидрата метилового эфира 10-кратным объемом метанольного аммиака в течение 8 *суток* при комнатной температуре приводит лишь к регенерации исходного вещества [371]; с другой стороны, амиды менее экранированных производных глицина и аланина в тех же самых условиях образуются достаточно легко. Обработка γ-этилглутамата (V) водным аммиаком не приводит к глутамину, а, напротив, ведет к внутримолекулярной циклизации с образованием пирролидонкарбоновой кислоты (VI) [604].

Типичная методика 155 [912]. Хлоргидрат L-лейцинамида. Раствор 10 *г* перекристаллизованного хлоргидрата метилового эфира L-лейцина (методика 48) в 50 *мл* безводного метанола, предварительно насыщенного аммиаком при 0°, оставляют в запаянной ампуле на 2 *суток* при комнатной температуре, затем концентрируют в вакууме досуха при температуре не выше 40°, добавляют примерно 25 *мл* метанола, смесь вновь выпаривают досуха и такую операцию повторяют еще несколько раз. Оставшиеся кристаллы промывают абсолютным эфиром и отфильтровывают; выход 8,5 *г*. После перекристаллизации из смеси метанола с эфиром получают тонкие пластинки с т. пл. 236—237°.

Типичная методика 156 [509]. Ацетаты амидов аминокислот. 5 *г* хлоргидрата метилового или этилового эфира соответствующей аминокислоты (методики 48 и 49) растворяют в 10—15 *мл* метанола и обрабатывают одним эквивалентом перегнанного триэтиламина. Добавляют около 200 *мл* сухого эфира, смесь охлаждают в течение 1 *час* в бане со льдом и солью, затем осадок хлоргидрата триэтиламина отфильтровывают и промывают эфиром. Объединенные фильтрат и промывные воды концентрируют в вакууме, оставшийся аминоэфир переносят в стеклянный автоклав, содержащий 50 *мл* метанола, предварительно насыщенного аммиаком при 0°, и смесь оставляют на 3 *суток* при комнатной температуре. Растворитель отгоняют в вакууме, остаток растворяют в небольшом количестве метанола, выпаривают в вакууме досуха и эту операцию повторяют еще несколько раз. Затем к остатку добавляют бензол, смесь упаривают в вакууме и полученный сырой продукт растворяют в небольшом количестве метанола, к которому добавлен 1 экв. ледяной уксусной кислоты. При добавлении к полученному раствору этилацетата осаждается ацетат амида аминокислоты, который перекристаллизовывают из смеси метанола с этилацетатом. Ниже приведены температуры плавления и выходы ацетатов амидов различных аминокислот, полученных этим методом: DL-аланин, 136—137°, 77%; DL-аспарагиновая кислота (диамид), 136—137°, 54%; глицин, 122—124°, 69%; DL-гистидин, 151—152°, 50%; DL-лейцин, 140—141°, 65%; DL-метионин, 143—146°, 27%; DL-фенилаланин, 139—140°, 29%; DL-серин, 117—119°, 57%; DL-триптофан, 126—127°, 56%; DL-тирозин, 159—161°, 64%; DL-валин, 140—143°, 66%.

В табл. 96—98 приведены некоторые пептиды, их эфиры и амиды, а также ампды аминокислот, которые были получены указанными выше методами.

Таблица 96

Метиловые, этиловые и бензиловые эфиры неацилированных пептидов

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
H-Ala-Gly-OEt·HCl	L	156	—	—	—	613a
H-Ala-Gly_2-OEt	L	103	—	—	—	353
H-Ala-Gly_2-OMe·HCl	DL	153	—	—	—	416
H-Ala-Gly-Val-CySBz-OBz·HBr	3L	178—179	—	—	—	875в
H-Ala-Ser-Val-CySBz-OBz·HBr	4L	180—182	—	—	—	432.
H-Ala-Tyr-OEt·HCl	D-L	—	+4,9	25	2%, H_2O	660
H-Ala-Tyr-OEt·HCl	L-L	—	+6,4	25	2%, H_2O	660
H-Asp(NH_2)-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OMe·HCOOH	8L	200 (с разл.)	—67,7	—	1%, H_2O	718a
H-Asp(NH_2)-CySBz-OMe·HBr	L-L	125—126	—22,5	23	1%, H_2O	482a
H-Asp(NH_2)-(CyS-Tri)-Pro-Leu-Gly-OMe·HCl	4L	—	—23	20	1%, $CHCl_3$	790
H-Asp-Gly-OEt	L	232	—	—	—	878
H-Arg-Try-OMe·2HCl	L-L	150 (с разл.)	—6,7	20	2,1%, H_2O	471a
H-Asp-OH └β-Ala-OEt	DL	188	—	—	—	895
H-Asp-Gly-OEt	DL	175—176	—	—	—	555
H-Asp-OH └Gly-OEt	DL	238	—	—	—	555
H-$(CySBz)_2$-OEt·HBr	L-L	145—147	—	—	—	432a
H-CySBz-Gly-OBz·HBr	L	124	—	—	—	432a
H-CySBz-Pro-Leu-Gly-OBz·HCl	3L	193—194	—73,5	23	1%, EtOH	798, *865*
H-CySH-Gly-OEt·Hl	L	111—113	—	—	—	477
H-(CyS-Tri)-Gly-OEt·HCl	L	100	—	—	—	549
H-(CyS-Tri)-Pro-Leu-Gly-OMe·HCl	3L	150	—17	20	2%, $CHCl_3$	673
H-CyS-Gly-OEt H-CyS-Gly-OEt	L L	72—73	—	—	—	353
H-Glu(OMe)-Asp(OMe)-(CyS-Tri)-Pro-Leu-Gly-OMe·HCl	5L	125	—30	20	2%, $CHCl_3$	673
H-Glu-OEt └Glu-$(OEt)_2$·HCl	L L	132—133	—5,6	26	4%, H_2O	767, *909*
H-Glu-OEt └Glu-OEt └Glu-$(OEt)_2$·HCl	L L L	147—150	—	—	—	*767*, *909*
H-Glu-Gly-OEt	L	151	—	—	—	878
H-Glu(OMe)-Gly-OEt·HCl	L	91—91,5	+32,0	19	5%, H_2O	677
H-Glu(OEt)-Gly_2-OEt·HBr	L	144—146	—	—	—	767
H-Glu-Tyr-OEt	L-L	144	—	—	—	709
H-Gly-Ala-Gly-OBz·HBr	DL	194—195	—	—	—	704
H-Gly-Ala-Gly-OBz·HBr	L	214—216	—54,5	25	2%, H_2O	717a
H-Gly-Glu-$(OEt)_2$·HCl	L	113—115	—13,7	18	8,9%, 96%-ный EtOH	649, *677*
H-Gly-Glu-Gly-OEt	L	—	—	—	—	878
H-Gly_2-OBz·HBr	—	144	—	—	—	665
H-Gly_2-OBz·HCl	—	160	—	—	—	*548*, 699
H-Gly_2-OEt	—	85—86	—	—	—	165
H-Gly_2-OEt·HCl	—	185—186	—	—	—	179, *415*
H-Gly_2-OMe	—	250 (с разл.)	—	—	—	164
H-Gly_2-Ala-OMe·HBr	DL	176—178	—	—	—	910
H-Gly_2-CySBz-OBz·HI	L	139—140	—40,3	23	0,8%, EtOH	711
H-Gly_2-Glu-$(OEt)_2$·HCl	L	160—161	—16,5	17	1,3%, EtOH	649
H-Gly_3-OBz·HBr	—	174—175	—	—	—	665
H-Gly_3-CySBz-OBz·HI	L	164—167	—14,7	22	1%, EtOH	711
H-Gly_3-OEt	—	107	—	—	—	165
H-Gly_3-OEt·HBr	—	191	—	—	—	415
H-Gly_3-OEt·HCl	—	215—216 (с разл.)	—	—	—	*165*, 353, 415, 919
H-Gly_3-OMe	—	110	—	—	—	164, *165*
H-Gly_3-OMe·HCl	—	197	—	—	—	165
H-Gly_4-CySBz-OBz·HI	L	166—168	—24,2	20	0,8%, HOAc	472
H-Gly_4-OEt	—	—[a]	—	—	—	165
H-Gly_4-OEt·HCl	—	213—214	—	—	—	165, *415*

Продолжение табл. 96

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °C	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	Литература
H-Gly$_5$-OEt	—	—	—	—	—	165
H-Gly$_5$-OEt·HCl	—	236—237 (с разл.)	—	—	—	165, *415*
H-Gly$_6$-OEt	—	—[a]	—	—	—	165
H-Gly$_6$-OEt·HCl	—	239—240 (с разл.)	—	—	—	165
H-Gly$_3$-Pro-OEt·HBr	DL	241	—	—	—	170
H-Gly$_3$-Pro-OEt·HBr	L	179—181 (с разл.)	—60,0	25	2,2%, H_2O	170
H-Gly$_2$-Phe-OEt·HOAc	L	121—122	—	—	—	902
H-Gly$_2$-Phe-OEt·HCl	DL	139—140	—	—	—	812б
H-Gly$_2$-Pro-OEt·HCl	L	112—114	—	—	—	170
H-Gly-Leu-OEt·HBr	L	178	—36,3	27	6%, EtOH	769a
H-Gly-Phe-OBz·HBr	L	193	—	—	—	665
H-Gly-Lys-OMe·2HCl	L	177	—	—	—	358
H-Gly-Phe-OMe·HCl	DL	166	—	—	—	415
H-Gly-Phe-OEt·HCl	L	—	+7,2	29	2%, H_2O	928
H-Gly-Pro-OEt·HCl	DL	137 (с разл.)	—	—	—	170
H-Gly-Pro-Gly-OEt·HCl	DL	213 (с разл.)	—	—	—	170
H-Gly-Pro-Gly-OEt·HCl	L	214	—104,0	25	1,5%, H_2O	170
H-Gly-Tyr-OEt·HOAc	L	—	+16,2	29	2%, H_2O	928
H-Gly-Tyr-OEt·HCl	L	245	+17,1	22	2%, H_2O	*660*, *914*
H-Gly-Tyr-OMe·HCl	L	223 (с разл.)	—	—	—	415
H-His-Phe-OMe·2HBr	L-L	165 (с разл.)	+13,5	23	2,3%, 4 н. HCl	471a
H-(α-NH$_2$-isoBut)-Phe-OEt·HCl	L	—	—18,1	22	2%, H_2O	660
H-(α-NH$_2$-isoBut)-Tyr-OEt·HCl	L	—	—9,1	22	2%, H_2O	660
H-Ileu-His-Pro-Phe-OMe·2HBr	4L	130—140	+18	22	1,0%, H_2O	714
H-Leu-Ala-Val-Phe-Gly-Pro-OBz·HBr·3H_2O	5L	250 (с разл.)	—65,3	23	0,7%, H_2O	915
H-Leu-Phe-OEt·HCl	D-L	—	—43,3	22	2%, H_2O	660
H-Leu-Phe-OEt·HCl	L-D	216	—	—	—	698
H-Leu-Phe-OEt·HCl	L-L	—	—3,8	22	2%, H_2O	660
H-Leu-Phe-Pro-OEt	3L	—	—	—	—	698
H-Leu-Phe-Pro-OMe·HCl	L-D-L	240 (с разл.)	—38,9	20	2%, MeOH	*698*, 719
H-Leu-Tyr-OEt·HCl	L-D	205—207	+18,3	25	2%, MeOH	679a
H-Leu-Tyr-Pro-OMe·HCl	L-D-L	239—241 (с разл.)	—51,0	21	2%, MeOH	679a
H-Leu-Val-Glu-(OEt)$_2$·HCl	3L	238—239	—25,5	25	2%, EtOH	718
H-Leu-Val-Glu-(OEt)$_2$·HBr	3L	220	—30,5	13	2%, EtOH	915a
H-Lys-Phe-OEt·2HCl	L-L	—	+14,5	22	2%, H_2O	660
H-Lys-Tyr-OEt·2HCl	L-L	—	+16,9	22	2%, H_2O	660
H-Lys-Val-Phe-Gly-OEt·2HBr	3L	216—218	—	—	—	507
H-(N$^{\varepsilon}$-Tos-Lys)-Gly-OEt	L	86,5—88	—6,0	21	3%, $CHCl_3$	393
H-(N$^{\varepsilon}$-Tos-Lys)-Gly-OEt·HBr	L	176,5—177,5	+16,7	21	2%, H_2O	393
H-(N$^{\varepsilon}$-Tos-Lys)-Gly-OEt·HCl	L	204—206	+18,9	21	3,4%, H_2O	393
H-Orn-Leu-Phe-Pro-OMe	2L-D-L	—	—	—	—	421
H-Phe-Gly-OEt·HBr	L	134—135	+41,8	25	1%, H_2O	*465*, 495, 682, 722
H-Phe-Gly-OEt·HCl	DL	152—153	—	—	—	812б
H-Phe-Gly$_2$-OEt·HCl	DL	239—240 (с разл.)	—	—	—	415
H-Phe-Pro-OEt·HCl	L-L	174	—	—	—	698
H-Pro-Gly-OEt·HCl	DL	95—96	—	—	—	170
H-Pro-Gly-OEt·HCl	L	119—120	—39,5	22	2,4%, H_2O	170
H-Pro-Gly$_2$·OEt	L	109	—	—	—	170
H-Pro-Gly$_3$-OEt	L	161—162	—	—	—	170
H-Pro-Gly$_3$-OEt·HCl	L	188 (с разл.)	—14,0	24	1,7%, H_2O	170
H-Pro-(N$^{\varepsilon}$-Tos-Lys)-Gly-OEt	L-L	81—84	—32,5	20	2,5%, EtOH	88, *393*
H-Pro-Phe-OEt·HCl	L-L	—	—40,9	22	2%, H_2O	660
H-Pro-Phe-OMe·HCl	L-L	162,5—163,5	—41,8	25	2,5%, H_2O	*508*, 714
H-Pro-Tyr-OEt·HCl	L-L	—	—29,3	22	2%, H_2O	660
H-Pro-Val-OMe·HBr	L-L	80 (с разл.)	—60,0	21	2,0%, H_2O	471a
H-Pro-Val-(N$^{\delta}$-Tos-Orn)-Leu-Tyr-Pro-OMe·HCl	4L-D-L	206—213	—83,0	25	0,5%, 0,01 н. HCl	679a
H-Ser-Gly-Ser-OMe·HCl	L-L	174—175	—4,1	24	2%, H_2O	631
H-Ser-Tyr-Ser-OMe·HCl	3L	135	+10,2	20	2,6%, MeOH	471a
H-Try-Gly-OBz·HCl	L	172—174	+27,0	25	1,2%, EtOH	791
H-Tyr-Leu-OBz·HCl	L-L	169—172	—16,7	19	1,6%, EtOH	584a
H-(O-Ac-Tyr)-Leu-OMe·HCl	L-L	—	—	—	—	584a
H-Tyr-(N$^{\varepsilon}$-Cbzo-Lys)-OBz	L-L	119—120	—	—	—	584a

Продолжение табл. 96

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
H-Tyr-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OBz·HCl	L-L	158,5—160	—	—	—	584а
H-Tyr-Ser-OMe·HCl	L-L	130—135 (с разл.)	+12,2	22	2,0%, MeOH	471а
H-Tyr_2-OEt·HCl	L-L	216 (с разл.)	—	—	—	637
H-Tyr_2-OMe·HCl	L-L	210	—	—	—	637
H-Tyr_3-OEt·HCl	3L	231—231,5 (с разл.)	—	—	—	637
H-Val-CySBz-OBz·HBr	L-L	184,5—185,5	—37,1	20	1,0%, MeOH	432а, *875в*
H-Val-(N^{ε}-Tos-Lys)-Leu-Phe-Pro-OMe·HCl	3L-D-L	140	—	—	—	626а
H-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro-OMe·HCl	3L-D-L	—	—48,0	24	0,9%, 0,01 н. HCl	423, *719*
H-[Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro]$_2$-OMe	[3L-D-L]$_2$	220—222 (с разл.)	—113,7	27	0,2%, EtOH	423
H-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Tyr-Pro-OMe·HCl	3L-D-L	—	—52,1	25	0,01%, 0,01 н. HCl	679а
H-Val-Phe-OMe·HCl	L-L	196—196,5	+26,6	28	2,8%, H_2O	586
H-Val-Phe-Gly-OEt·HBr	L-L	210—211	+29,2	25	2%, H_2O	507
H-Val-Tyr-OMe·HBr	L-L	208—209	+31,0	23	1,1%, MeOH	714
H-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OMe·2HCl	6L	181—187	—14,1	25	1%, MeOH	508
H-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OMe	6L	135—140 (с разл.)	—55	—	0,9%, MeOH	718а
H-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-His-Leu-OMe	8L	—	—70	—	1,2%, MeOH	638а
H-Val_3-OMe·HCl	3L	225—228 (с разл.)	+48,8	22	2,1%, H_2O	543а
H-Val_3-OMe·HCl	2L-D	220—224 (с разл.)	+16,3	21	2,0%, H_2O	543а
H-Val_3-OMe·HCl	3D	226—228 (с разл.)	—51,2	22	2,3%, H_2O	543а

[а] Нет определенной температуры плавления.

Таблица 97

Амиды аминокислот и пептидов

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
H-Ala-NH_2	L	71—72	—	—	—	945
H-Ala-NH_2·HOAc	DL	136—137	—	—	—	509
H-β-Ala-NH_2·HOAc	—	118			—	899
H-Ala-NH_2·HBr	DL	175	—	—	—	616
H-Ala-NH_2·HCl	DL	—	—	—	—	946
H-Ala-NH_2·HCl	L	196—199	—	—	—	899
H-β-Ala-Gly-NH_2·HOAc	—	118—120	—	—	—	899
H-Ala-Gly-Phe-NH_2	L-L	—	—	—	—	902
H-Ala-Leu-NH_2·HOAc	D-L	249—250	—35	26	1,5%, H_2O	467
H-Ala-Leu-NH_2·HOAc	L-L	250 (с разл.)	—9	28	2%, H_2O	467
H-Ala-Phe-NH_2·HOAc	L-L	—	+33,4	27	1,5%, H_2O	902
H-Ala-Tyr-NH_2·HOAc	L-L	—	+30,2	27	1,2%, H_2O	902
H-(α-NH_2-*n*-But)-NH_2·HCl	DL	222—223	—	—	—	612
H-Asp-NH_2	DL	—	—	—	—	555
H-Asp-NH_2	L	—	+15,5[а]	18	1,5%, 0,1 н. HCl	*128*, 576, 885
H-Asp(NH_2)-NH_2·HOAc	DL	136—137	—	—	—	509
H-Arg-NH_2·2HCl·H_2O	L	—	+13,8	24	1%, H_2O	*904*, 947
H-Arg-Gly-NH_2 (дипикрат)	L	209—210	+15,9	24	1%, ацетон—H_2O (1:1)	511
H-CySBz-NH_2·HCl	DL	112	—	—	—	616
H-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	3L	136—137[б]	—50,8[б]	20	3,3%, EtOH	865, *868*
H-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2·H_2O	3L	—	—	—	—	717
H-CySBz-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-Gly-NH_2	3L	—	—13,6	21	2%, $CHCl_3$	393
H-CyS-Tyr-Ileu-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CyS-Pro-Leu-Gly-NH_2 (окситоцин)	8L	—	—26,1	22	0,5%, H_2O	*82*, 673, 868

Продолжение табл. 96

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
H-Tyr-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-OBz·HCl	L-L	158,5—160	—	—	—	584a
H-Tyr-Ser-OMe·HCl	L-L	130—135 (с разл.)	+12,2	22	2,0%, MeOH	471a
H-Tyr_2-OEt·HCl	L-L	216 (с разл.)	—	—	—	637
H-Tyr_2-OMe·HCl	L-L	210	—	—	—	637
H-Tyr_3-OEt·HCl	3L	231—231,5 (с разл.)	—	—	—	637
H-Val-CySBz-OBz·HBr	L-L	184,5—185,5	—37,1	20	1,0%, MeOH	432a, *875в*
H-Val-(N^{ε}-Tos-Lys)-Leu-Phe-Pro-OMe·HCl	3L-D-L	140	—	—	—	626a
H-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro-OMe·HCl	3L-D-L	—	—48,0	24	0,9%, 0,01 н. HCl	423, *719*
H-[Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro]$_2$-OMe	[3L-D-L]$_2$	220—222 (с разл.)	—113,7	27	0,2%, EtOH	423
H-Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Tyr-Pro-OMe·HCl	3L-D-L	—	—52,1	25	0,01%, 0,01 н. HCl	679a
H-Val-Phe-OMe·HCl	L-L	196—196,5	+26,6	28	2,8%, H_2O	586
H-Val-Phe-Gly-OEt·HBr	L-L	210—211	+29,2	25	2%, H_2O	507
H-Val-Tyr-OMe·HBr	L-L	208—209	+31,0	23	1,1%, MeOH	714
H-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OMe·2HCl	6L	181—187	—14,1	25	1%, MeOH	508
H-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OMe	6L	135—140 (с разл.)	—55	—	0,9%, MeOH	718a
H-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-His-Leu-OMe	8L	—	—70	—	1,2%, MeOH	638a
H-Val_3-OMe·HCl	3L	225—228 (с разл.)	+48,8	22	2,1%, H_2O	543a
H-Val_3-OMe·HCl	2L-D	220—224 (с разл.)	+16,3	21	2,0%, H_2O	543a
H-Val_3-OMe·HCl	3D	226—228 (с разл.)	—51,2	22	2,3%, H_2O	543a

[a] Нет определенной температуры плавления.

Таблица 97

Амиды аминокислот и пептидов

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
			$[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	
H-Ala-NH_2	L	71—72	—	—	—	945
H-Ala-NH_2·HOAc	DL	136—137	—	—	—	509
H-β-Ala-NH_2·HOAc	—	118	—	—	—	899
H-Ala-NH_2·HBr	DL	175	—	—	—	616
H-Ala-NH_2·HCl	DL	—	—	—	—	946
H-Ala-NH_2·HCl	L	196—199	—	—	—	899
H-β-Ala-Gly-NH_2·HOAc	—	118—120	—	—	—	899
H-Ala-Gly-Phe-NH_2	L-L	—	—	—	—	902
H-Ala-Leu-NH_2·HOAc	D-L	249—250	—35	26	1,5%, H_2O	467
H-Ala-Leu-NH_2·HOAc	L-L	250 (с разл.)	—9	28	2%, H_2O	467
H-Ala-Phe-NH_2·HOAc	L-L	—	+33,4	27	1,5%, H_2O	902
H-Ala-Tyr-NH_2·HOAc	L-L	—	+30,2	27	1,2%, H_2O	902
H-(α-NH_2-*n*-But)-NH_2·HCl	DL	222—223	—	—	—	612
H-Asp-NH_2	DL	—	—	—	—	555
H-Asp-NH_2	L	—	+15,5[a]	18	1,5%, 0,1 н. HCl	*128*, 576, 885
H-Asp(NH_2)-NH_2·HOAc	DL	136—137	—	—	—	509
H-Arg-NH_2·2HCl·H_2O	L	—	+13,8	24	1%, H_2O	*904*, 947
H-Arg-Gly-NH_2 (дипикрат)	L	209—210	+15,9	24	1%, ацетон—H_2O (1 : 1)	511
H-CySBz-NH_2·HCl	DL	112	—	—	—	616
H-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2	3L	136—137[б]	—50,8[б]	20	3,3%, EtOH	865, *868*
H-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH_2·H_2O	3L	—	—	—	—	717
H-CySBz-Pro-(N^{ε}-Tos-Lys)-Gly-NH_2	3L	—	—13,6	21	2%, $CHCl_3$	393
H-CyS-Tyr-Ileu-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CyS-Pro-Leu-Gly-NH_2 (окситоцин)	8L	—	—26,1	22	0,5%, H_2O	*82*, 673, 868

Продолжение табл. 97

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	Литература
H-CyS-Tyr-Ileu-[Glu(NH)$_2$-Asp(NH$_2$)-CyS-Pro-Leu-Gly-NH$_2$]-NH$_2$·HOAc (изоглутамин-окситоцин)	8L	—	+33,0	21,5	0,6%, H_2O	623
H-CyS-Tyr-Phe-Glu(NH$_2$)-Asp(NH$_2$)-CyS-Pro-Leu-Gly-NH$_2$ (окситрессин)	8L	—	—33	22	0,6%, 0,1 н. HOAc	846
H-CyS-Tyr-Phe-Glu(NH$_2$)-Asp(NH$_2$)-CyS-Pro-Lys-Gly-NH$_2$ (лизин-вазопрессин)	8L	—	—47,5	20	1%, H_2O	432
Диамид α,ε-диаминопимелиновой кислоты	DL	—	—	—	—	*478*, 920
H-Glu-NH$_2$	DL	—	—	—	—	607
H-Glu-NH$_2$	L	—	+20,5	21	6,1%, H_2O	128, *435*, 509, 790, 882, 922
H-Glu(NH$_2$)-Asp(NH$_2$)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH$_2$	5L	145	—67,3	19	2,3%, HOAc	*472*, 868
H-Glu(NH$_2$)-Glu(NH$_2$)-CySBz-Pro-Leu-Gly-NH$_2$	5L	—	—	—	—	629
H-Glu(OEt)-NH$_2$·HCl	L	197—198	+21,2	26	2%, H_2O	648
H-Glu-OH └Gly-NH$_2$	L	196—197	—	—	—	890
H-Glu-NH$_2$ └Gly-OH	L	183	+15,3	21,5	2%, H_2O	701
H-(γ-OH-Glu)-NH$_2$	DL	—	—	—	—	485
H-(allo-γ-OH-Glu)-NH$_2$	DL	—	—	—	—	485
H-Glu-Leu-NH$_2$	L-L	175—177	+6,7	27	2,1%, H_2O	912
H-Glu-Phe-NH$_2$	L-L	185—186	—	—	—	924
H-Gly-NH$_2$	—	67—68	—	—	—	945
H-Gly-NH$_2$·HOAc	—	122—124	—	—	—	509
H-Gly-Ala-NH$_2$	DL	126—127	—	—	—	830a
H-Gly$_2$-NH$_2$·HOAc	—	—	—	—	—	916
H-Gly$_3$-NH$_2$·HOAc	—	—	—	—	—	911
H-Gly$_2$-Phe-NH$_2$	L	—	—	—	—	902
H-Gly-His-NH$_2$·2HCl·H_2O	L	—	—	—	—	925
H-Gly-Leu-NH$_2$·HCl	L	210 (с разл.)	—19,0	26	5%, H_2O	912
H-Gly-Lys-NH$_2$·2HBr	L	—	—	—	—	833
H-Gly-(N^ε-Cbzo-Lys)-Pro-Val-NH$_2$·HCl	3L	130 (с разл.)	—62,0	21	2,2%, MeOH	471a
H-Gly-Met-NH$_2$·HOAc	L	108—110	—	—	—	627
H-Gly-Phe-NH$_2$·HOAc	D	—	—28,5	25	5%, H_2O	902
H-Gly-Phe-NH$_2$·HOAc	L	—	+28,8	26	5%, H_2O	916
H-Gly-Phe-Gly-Phe-NH$_2$	L-L	—	+17,6	27	2%, пиридин	902
H-Gly-Tyr-NH$_2$·HOAc	L	—	+28,0	22	10%, H_2O	916
H-Gly-(O-Me-Tyr)-NH$_2$·HOAc	L	—	+39,5	22	2%, H_2O	660
H-Gly-Tyr-Gly-NH$_2$·HCl	L	89—90	—	—	—	700
H-Gly-Val-NH$_2$·HBr	DL	180	—	—	—	920a
H-His-NH$_2$·HOAc	DL	151—152	—	—	—	509
H-His-NH$_2$·HCl	DL	233 (с разл.)	—	—	—	616
H-His-NH$_2$·2HCl	L	260—261	+22,0	20	1%, H_2O	621
H-His-Phe-Arg-Try-Gly-(N^ε-Cbzo-Lys)-Pro-Val-NH$_2$·HCl	7L	100	—37,3	22	2,0%, MeOH	471a
H-Hypro-NH$_2$	L	139	—	—	—	169
H-Ileu-NH$_2$·HCl	D	246—247	—21,0	24	1%, H_2O	622
H-Ileu-NH$_2$·HCl	L	246 (с разл.)	+21,2	20	1%, H_2O	622
H-Leu-NH$_2$	DL	105—106	—	—	—	945
H-Leu-NH$_2$·HOAc	DL	140—141	—	—	—	509
H-Leu-NH$_2$·HOAc	D	128—129	—9,2	24	5%, H_2O	*612*, 926
H-Leu-NH$_2$·HOAc	L	125—126	—	—	—	926
H-Leu-NH$_2$·HBr	L	—	+8,7	25	5%, H_2O	464
H-*t*-Leu-NH$_2$·HCl	DL	337	—	—	—	371
H-Leu-NH$_2$·HCl	D	—	—10,9	25	2%, H_2O	254
H-Leu-NH$_2$·HCl	L	236—237	+9,5[в]	25	5%, H_2O	254, *912*
H-Leu-Ala-NH$_2$·HOAc	L-L	250—255 (с разл.)	+4,0	21	1%, H_2O	467
H-Leu-Gly-NH$_2$	DL	97—98	—	—	—	805
H-Leu-Gly-NH$_2$·HBr	DL	200—202	—	—	—	805
H-Leu-Phe-NH$_2$·HOAc	L-L	—	—	—	—	660

Продолжение табл. 97

Соединение	Конфигурация	Т. пл., °С	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	Литература
H-Leu-Tyr-NH_2·HOAc	L-L	—	+6,2	27	2,1%, пиридин	902
H-Lys-NH_2·2HCl	L	250—260 (с разл.)	—	—	—	584а, *833*
H-(N^{ε}-Cbzo-Lys)-NH_2·HCl	L	203	—	—	—	358
H-Lys-Gly-NH_2·2HBr	L	—	—	—	—	833
H-Lys-Lys-Tyr-NH_2·3HCl	3L	—	—	—	—	584а
H-Lys-Phe-NH_2·2HCl	L-L	—	+38,0	22	2%, H_2O	660
H-Lys-Tyr-NH_2·2HBr	L-L	—	+17,3	18	2%, H_2O	660
H-Lys-Tyr-NH_2·2HCl	L-L	250—253	—	—	—	584а
H-Met-NH_2·HOAc	DL	143—146	—	—	—	509
H-Met-NH_2·HOAc	D	101—102	—	—	—	627
H-Met-NH_2·HOAc	L	103	—	—	—	627
H-Nleu-NH_2·HCl	DL	234—235 (с разл.)	—	—	—	612
H-Nval-NH_2·HCl	DL	240	—	—	—	612
H-Phe-NH_2	DL	137—139	—	—	—	586
H-Phe-NH_2·HOAc	DL	139—140	—	—	—	509
H-Phe-NH_2·HCl	DL	238—239 (с разл.)	—	—	—	586
H-Phe-NH_2·HOAc	D	—	+34,8	25	2%, H_2O	924
H-Phe-NH_2·HOAc	L	119—120	—	—	—	916
H-Phe-Gly-NH_2·HOAc	L	—	+68,2	23	5%, H_2O	916
H-Phe_2-NH_2	L-L	138	—	—	—	916
H-Phe-Tyr-NH_2	L-L	180	—	—	—	916
H-Pro-NH_2	DL	99				927
H-Pro-NH_2	L	99	—	—	—	927
H-Pro-NH_2·HCl	L	182	—70,7	23	2%, EtOH	169, 509, *927*
H-Pro-Leu-Gly-NH_2·$^1/_2$ H_2O	L-L	122—123	—	—	—	717
H-Pro-Leu-Gly-NH_2·HBr	L-L	191—192	—	—	—	717
H-Pro-Phe-NH_2·HCl	L-L	—	—15,8	22	2%, H_2O	660
H-Ser-NH_2·HOAc	DL	117—119	—	—	—	509
H-Ser-Phe-NH_2·HCl	L-L	—	+26,7	29	2%, H_2O	928
H-Ser-Tyr-NH_2·HCl	L-L	—	+30,0	29	2%, H_2O	928
H-Try-NH_2	DL	120—121	—	—	—	634
H-Try-NH_2·HOAc	DL	126—127	—	—	—	509
H-Try-NH_2	L	167—170	—7,9	20	2%, EtOH	948
H-Try-NH_2·HCl	L	257—260 (с разл.)	+24,0	26	1,6%, H_2O	612
H-Tyr-NH_2·HOAc	DL	159—161	—	—	—	509
H-Tyr-Gly-NH_2·HOAc	L	—	+70,9	22	6%, H_2O	916
H-Tyr-NH_2·HOAc	L	177	—	—	—	926
H-Tyr_2-NH_2·HOAc	L-L	—	—	—	—	916
H-Val-NH_2·HOAc	DL	140—143	—	—	—	509
H-Val-NH_2·HBr	DL	—	—	—	—	464
H-Val-NH_2·HCl	DL	245	—	—	—	622
H-Val-NH_2·HCl	D	268—269 (с разл.)	—28,3	24	1%, H_2O	622
H-Val-NH_2·HCl	L	268 (с разл.)	+28,3	20	1%, H_2O	622
H-Val-Gly-NH_2·HBr	DL	228	—	—	—	920а

[а] $[\alpha]_D^{19}$ + 9,7° (0,5% в H_2O) [576].

[б] Т. пл. 69,5—71,5°; $[\alpha]_D^{23}$ —47,7° (1% в EtOH) [865].

[в] $[\alpha]_D^{25}$ +10,8° (3% в 1 н. HCl) [254].

Таблица 98

Свободные пептиды

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	температура, °С	концентрация и растворитель	Литература
H-Ala_2-OH	D-D	+37,9	24	2%, 0,5 н. HCl	666
H-Ala_2-OH	D-L	—71,1	25	2%, H_2O	196, *468*
H-Ala_2-OH	L-D	+74,1[а]	23	2%, 0,5 н. HCl	*666*, 949
H-Ala_2-OH	L-L	—37,3[б]	24	2%, 0,5 н. HCl	156, 198, *666*, 896, 949
H-Ala_3-OH	2L-D	—4,6	23	2%, 0,5 н. HCl	703

Продолжение табл. 98

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	Удельное вращение: температура, °C	Удельное вращение: концентрация и растворитель	Литература
H-β-Ala-β-Ala-OH	—	—	—	—	899
H-Ala_3-OH	3D	+85,9	24	2%, 0,5 н. HCl	703
H-Ala_3-OH	D-2L	—115,2	23	2%, 0,5 н. HCl	703
H-Ala_3-OH	L-D-L	+37,0	23	2%, 0,5 н. HCl	703
H-Ala_3-OH	3L	—85,4[в]	23	2%, 0,5 н. HCl	*703*, 950
H-Ala_4-OH	D-3L	—145,1	22	2%, 0,5 н. HCl	897
H-Ala_4-OH	L-D-2L	—14,2	21	2%, 0,5 н. HCl	897
H-Ala_4-OH	2L-D-L	—5,0	25	2%, 0,5 н. HCl	897
H-Ala_4-OH	4L	—120,5	20	2,2%, 2 н. HCl	950
H-Ala_4-OH·H_2O	4L	—131,0	25	2%, 0,5 н. HCl	897
H-Ala_5-OH	5L	—149,7[г]	23	2%, 0,5 н. HCl	*897*, 950
H-Ala_6-OH	6L	—156,6	23	0,9%, 0,5 н. HCl	897
H-Ala_2-Gly-OH	D-D	+47,2	20	3%, H_2O	951
H-Ala_2-Gly-OH	L-L	—48,1	22	2%, H_2O	353
H-Ala-CyS-OH	D-L	—227,9	20	1%, 1 н. HCl	617, *952*
H-Ala-CyS-OH	D-L				
H-Ala-CyS-OH	L-L	—137,4	20	1,3%, 1 н. HCl	617
H-Ala-CyS-OH	L-L				
H-Ala-(α-NH_2-*n*-But)-OH	D-L	—52,8	25	2%, H_2O	468
H-Ala-(α-NH_2-*n*-But)-OH	L-L	—8,0	25	2%, H_2O	468
H-Ala-(α-NH_2-isoBut)-OH	L	+34,5	20	2%, H_2O	466
H-Ala-Arg-OH·HOAc	L-L	+8,7	27	3,3%, H_2O	491
H-Ala-Glu-OH	D-L	—32,9	23	1—2%, 0,5 н. HCl	898
H-Ala-Glu(NH_2)-OH	D-L	—20,1	15	5%, H_2O	953
H-Ala-Glu-OH	L-D	+32,4	23	1—2%, 0,5 н. HCl	898
H-Ala-Glu-OH	L-L	—9,3	24	1—2%, 0,5 н. HCl	898
H-Ala-Glu(NH_2)-OH	L-L	+9,3	18	1%, H_2O	953
H-Ala-Glu-Ala-OH	D-L-D	—13,3	24	2%, 0,5 н. HCl	891
H-Ala-Glu-OH	D-L	+7,6	24	2%, 0,5 н. HCl	891
└Ala-OH	D				
H-Ala-Glu-Ala-OH	D-2L	—63,8	24	2%, 0,5 н. HCl	891
H-Ala-Glu-OH	D-L	—47,5	24	2%, 0,5 н. HCl	891
└Ala-OH	L				
H-Ala-Glu-Ala-OH	2L-D	+6,9	24	2%, 0,5 н. HCl	891
H-Ala-Glu-OH	L-L	+26,2	24	2%, 0,5 н. HCl	891
└Ala-OH	D				
H-Ala-Glu-Ala-OH	3L	—41,7	24	2%, 0,5 н. HCl	891
H-Ala-Glu-OH	L-L	—29,9	25	2%, 0,5 н. HCl	891
└Ala-OH	L				
H-Ala-Gly-OH	DL	—	—	—	127, 353, 416, 464, 547, 551, 573, 900
H-Ala-Gly-OH	D	23,5[д]	24	2%, 0,5 н. HCl	466, 666
H-Ala-Gly-OH	L	+22,6[е]	24	2%, 0,5 н. HCl	215, 251, 353, 466, 548, 613*а*, *666*, 949
H-β-Ala-Gly-OH	—	—	—	—	899
H-Ala-Gly-Ala-OH	L-L	—19,5	20	3,7%, H_2O	935
H-Ala-Gly_2-OH	D	—31,6	25	10%, H_2O	705
H-Ala-Gly_2-OH	L	+32,4	25	10%, H_2O	157, 215, 353, *705*
H-β-Ala-Gly_2-OH	—	—	—	—	899
H-Ala-Gly_2-Ala-Gly_2-OH	L-L	+13,2	21	8%, H_2O	157
H-Ala-Gly_3-OH	L	+27,0	20	3%, H_2O	216
H-Ala-Gly-Leu-OH	L-L	—11,2	20	2,3%, H_2O	954
H-Ala-Gly-Tyr-OH	L-L	+41,9	20	4,6%, H_2O	229, 931
H-Ala-Gly-CyVal-SBz-OH	3L	—32	20	0,7%, H_2O	875в
H-β-Ala-His-OH	D	—20,4	28	2%, H_2O	862
H-β-Ala-His-OH	L	+20,5	25	2%, H_2O	690
H-Ala-His-OH·($^1/_2H_2SO_4$)	D-L	—2,5	24	1%, H_2O	359
H-Ala-His-OH	L-L	+27,0	27	1%, H_2O	359
H-Ala-His-OH·($^1/_2H_2SO_4$)	L-L	+14,1	25	—, H_2O	359
H-β-Ala-(1-Me-His)-OH	L	+12,3	30	5%, H_2O	50
H-β-Ala-His-Gly-OH·HNO_3	L	—	—	—	621

Продолжение табл. 98

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
H-Ala-Ileu-OH	L-L	+6,1	20	3,8%, 1 н. HCl	955
H-Ala-Leu-OH	D-D	—	—	—	469
H-Ala-Leu-OH	L-L	—17,0	21	5%, H_2O	127, 230, *467*
H-β-Ala-Leu-OH	L	—31,0	26	1,5%, H_2O	899
H-Ala-Leu-Gly-OH	L-L	—30,4	20	2,1%, H_2O	954
H-Ala-Leu-Ileu-OH	3L	—24,9	20	4,9%, 1 н. HCl	956
H-Ala-Leu_2-OH	3D	+62,0	25	3,2%, 1 н. NaOH	198
H-Ala-Leu-Val-OH	3L	—60,2	19	4,4%, H_2O	957
H-Ala-Lys-OH·HCl	D-L	—30,4	24	2%, 0,5 н. HCl	667
H-Ala-Lys-OH	D-L	—27,9	25	2%, 6 н. HCl	949
H-Ala-Lys-OH·HCl	L-L	—7,4	24	2%, 0,5 н. HCl	667
H-Ala-Lys-OH	L-L	—7,2	25	2%, 6 н. HCl	949
H-Ala-Lys-Ala-OH·HCl	L-2D	+12,4	24	2%, 0,5 н. HCl	706
H-Ala-Lys-Ala-OH·HCl	L-D-L	+14,2	19	2%, 0,5 н. HCl	706
H-Ala-Lys-Ala-OH·HCl	3L	—42,5	25	2%, 0,5 н. HCl	706
H-Ala-Lys-Ala_2-OH·2HCl	4L	—78,0	24	2%, 0,5 н. HCl	901
H-Ala-Lys-Ala_2-OH·HCl	L-D-2L	—18,6	24	2%, 0,5 н. HCl	901
H-Ala-Lys-Ala_3-OH·HCl	L-D-3L	—62,0	27	2%, 0,5 н. HCl	901
H-Ala-Lys-Ala_3-OH·HCl·H_2O	5L	—109,3	23	2%, 0,5 н. HCl	901
H-Ala-Nval-OH	D-L	—47,4	25	2%, H_2O	468
H-Ala-Nval-OH	L-L	—5,0	25	2%, H_2O	468
H-β-Ala-Phe-OH	DL	—	—	—	464
H-Ala-Pro-OH	L-L	—114,4	25	2,7%, H_2O	940
H-β-Ala-Pro-OH	L	—93,3	26	1,5%, H_2O	899
H-Ala-Ser-OH	L-L	+11,5	23	1,7%, H_2O	631
H-Ala-Try-OH	L-L	+18,7	20	6%, H_2O	226, 958
H-Ala-Tyr-OH	L-L	+43,1	20	2%, H_2O	216
H-Ala-(I_2-Tyr)-OH	L-L	+62,9	20	7,8%, NH_4OH	216
H-Ala-Tyr-Gly-OH	L-L	+18,5	22	2%, H_2O	353
H-Ala-Val-OH	L-L	—5,9	20	10%, H_2O	185
Производные α-аминомасляной кислоты					
H-(α-NH_2-*n*-But)-Gly-OH	DL	—	—	—	552
H-(α-NH_2-*n*-But)-Gly-OH	L	+72	16	2,8%, H_2O	58
N-*Аргинилпроизводные*					
H-Arg-Ala-OH·HOAc	L-L	+9,7	32	2,4%, H_2O	*491*, 845, 904
H-Arg-Arg-OH (дипикролонат)	L-L	+5,5	25	1%, диметилформамид	850, *904*
H-Arg-Asp-OH·$2H_2O$	L-L	+32,1	24	1%, H_2O	845, *904*
H-Arg-Glu-OH	L-L	+25,1[3]	22	1,9%, H_2O	491, *513*
H-Arg-Glu-OH·H_2O	L-L	+27,2	19	1%, H_2O	541
H-Arg-Glu-OH·$2H_2O$	L-L	+22,0	25	1%, H_2O	363
H-Arg-Glu-OH·$4H_2O$	L-L	+21,4	24	1%, H_2O	845, *905*
H-Arg-Gly-OH·2HOAc	L	+37,6[и]	25	1%, H_2O	491, 513, *904*
H-Arg-Gly-OH·(1/2 H_2SO_4)	L	+14,2	19	1%, H_2O	541
H-Arg-Ileu-OH·HOAc	L-L	+17,4	24	1%, H_2O	904
H-Arg-Leu-OH·HOAc	L-L	+10,3	25	1%, H_2O	363, 491, 513, 845, *904*
H-Arg-Leu-OH·HBr·H_2O	L-L	+8,6	24	2%, H_2O	471
H-Arg-Leu-OH·HCl	L-L	+10,2	19	1%, H_2O	541
H-Arg-Phe-OH·HOAc	L-L	+29,3	25	1%, H_2O	491, 513, *904*
H-Arg-Phe-OH·HCl	L-L	+36,6	19	1%, H_2O	541
H-Arg-(β-Phser)-OH·HOAc	L-L	+39,7	22	0,7%, H_2O	513
H-Arg-Try-OH·HOAc	L-L	+5,1	28	4,9%, H_2O	491
H-Arg-Tyr-OH·HOAc	L-L	+32,0	25	1%, H_2O	491, 513, 845, *904*
H-Arg-Val-OH·HOAc	L-L	+15,8	24	1%, H_2O	904
N-*Аспартил-* и N-*аспарагинилпроизводные*					
H-Asp-β-Ala-OH	DL	—	—	—	895
H-Asp-OH	L	—	—	—	908
└Ala-OH	L				
H-Asp(NH_2)-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OH	8L	—44,0	22	0,6%, H_2O	714
H-Asp-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OH	8L	—	—	—	508
H-Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OH·HOAc × × $2H_2O$	8L	—53,8	—	1%, H_2O	718a

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
H-Asp(NH_2)-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OH × × HOAc	8L	—58,0	—	1%, H_2O	718a
H-Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-His-Leu-OH·HOAc·$5H_2O$	10L	—67,5	—	1,7%, H_2O	638a
H-Asp(NH_2)-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-His-Leu-OH·HOAc·$5H_2O$	10L	—68	—	1,7%, H_2O	638a
H-Asp(NH_2)-CySH-OH	L-L	—	—	—	674
H-Asp-OH	L	—29,0	25	1%, H_2O	727
└CySH-Gly-OH	L				
H-Asp-Glu-OH	L-L	+5,6	25	3,4%, H_2O	609
H-Asp-OH	L	—	—	—	609
└Glu-OH	L				
H-Asp(NH_2)-Gly-OH	L	+53,0	27	4,6%, H_2O	482
H-Asp-Gly-OH	DL	—	—	—	555
H-Asp-OH	DL	—	—	—	555
└Gly-OH					
H-Asp(NH_2)-Gly-OH	L	+55,0	20	1%, H_2O	674, *790*
H-Asp-Gly-OH	L	+38,0	25	2%, H_2O+1 экв. HCl	609, *672*
H-Asp-Gly-OH·H_2O	L	+36,7	23	1,9%, H_2O+1 экв. HCl	726
H-Asp-OH	L	+7,2ж	22	2,4%, H_2O+1 экв. HCl	609, *726*
└Gly-OH					
H-Asp-Gly-OH	L	+33,8	23	2,3%, H_2O+1 экв. HCl	726
└Gly-OH					
H-Asp-His-OH·$2H_2O$	L-L	—6,0	30	1%, H_2O	838
H-Asp-OH	L	+38,0	27	1%, H_2O	836
└His-OH	L				
H-Asp(NH_2)-Leu-OH	L-L	—9,8	25	5%, H_2O	*672*, 790
H-(N^{ε}-Asp-Lys)-OH·$2H_2O$	L-L	+13,2	20	1,4%, 0,5 н. HCl	439*a*
H-Asp-Tyr-OH·H_2O	L-L	+17,8	21	2,6%, H_2O+1 экв. HCl	609
H-Asp-OH	L	+60,1	18	2,3%, H_2O+1 экв. HCl	128
└Tyr-OH	L				
H-Asp-Val-OH	L-L	+14	20	2,3%, HOAc	880
H-Asp-OH	L	—10	20	1,5%, H_2O	880
└Val-OH	L				
N-Цистеинил- и N-цистинилпроизводные					
H-CySH-Asp(NH_2)-OH	L-L	—	—	—	674
H-CyS-CyS-OH (циклоцистинил)	L-L	—29	25	1%, 1 н. HCl	473, *959*
H-CySBz-CySBz-OH	D-L	+1,5	26	0,5%, 1 н. NaOH	473
H-CySBz-CySBz-OH	L-D	—1,8	—	0,5%, 1 н. NaOH	473
H-CySBz-CySBz-OH	L-L	—14,1 к	26	2%, 1 н. NaOH	390, *473*
H-CySH-CySH-OH·$1^1/_2$HCl·H_2O	L-L	+35,0	22	1%, 0,2 н. HCl	193
H-CyS-CyS-OH (параллельная структура)	D-L	+190	26	1%, 1 н. HCl	473
H-CyS-CyS-OH	D-L				
H-CyS-CyS-OH (параллельная структура)	L-D	—187	26	1%, 1 н. HCl	473
H-CyS-CyS-OH	L-D				
H-CyS-CyS-OH (параллельная структура)	L-L	—58,7	26	1%, 1 н. HCl	473
H-CyS-CyS-OH	L-L				
H-CyS-CyS-OH·H_2O (параллельная структура)	L-L	—60	22	1%, 1 н. HCl	193
H-CyS-CyS-OH·H_2O	L-L				
H-CyS-CyS-OH·HCl·$2H_2O$ (параллельная структура)	L-L	—	—	—	193
H-CyS-CyS-OH·HCl·$2H_2O$	L-L				
H-CySH-Glu(NH_2)-OH	L-L	+6,6	—	3%, H_2O	474
H-CyS-Glu(NH_2)-OH	L-L	—13,9	—	3%, H_2O	474
H-CyS-Glu(NH_2)-OH	L-L				
H-CySH-Gly-OH·H_2O	L	+46,1	28	2,9%, H_2O	874
H-CySH-Gly-OH·HCl	L	+21,5	25	2%, H_2O	960

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
H-CySBz-Gly-OH	L	+27,0л	—	2%, 1 н. NaOH	476, *606*, 862
H-CyS-Tri-Gly-OH	L	+17,5	20	2%, 0,1 н. NaOH—MeOH (1 : 9)	549
H-CyS-Gly-OH	L	—68,5м	21	1%, H_2O	*353*, 512, 861, 862
H-CyS-Gly-OH	L				
H-CyS-Gly$_2$-OH·H_2O	L	—55,0	20	1%, 1 н. HCl	863
H-CyS-Gly$_2$-OH·H_2O	L				
H-CyS-Gly$_4$-CyS-OH	L-L	—67	22	0,5%, 1 н. H_2SO_4	711
H-CySH-Phe-OH	L-L	—8,9	25	2%, 1 н. HCl	512
H-CyS-Phe-OH·HCl	L-L	—57,3	25	0,8%, 1 н. HCl	512
H-CyS-Phe-OH·HCl	L-L				
H-CyS-Tyr-OH	L-L	—50,8	25	5%, 1 н. HCl	*646*, 830
H-CyS-Tyr-OH	L-L				
H-CySH-Tyr-OH	L-L	+15,8	21	5%, 1 н. HCl	646, 804, *917*
H-CySH-Tyr-Ileu-OH	3L	+8,5	21	2%, 5%-ная HOAc	707
H-CySBz-Val-OH	L-D	+23,5н	23	1,6%, 2,5 н. HCl	476, *864*
N-Глутамил- и N-глутаминилпроизводные					
H-Glu-Ala-OH	L-D	+79,7	24	1—2%, 0,5 н. HCl	898
H-Glu-OH	L	+63,1	24	1—2%, 0,5 н. HCl	898
└Ala-OH	D				
H-Glu-Ala-OH	L-L	+7,3о	27	1—2%, 0,5 н. HCl	881, *898*
H-Glu-OH	L	—26,4п	26	2%, H_2O	605, *692*, 898
└Ala-OH	L				
H-Glu(NH_2)-Ala-OH	L-L	+8	24	1%, 1 н. HCl	619
H-Glu-Ala-OH	L-D	+92,2	25	2%, 0,5 н. HCl	891
└Ala-OH	D				
H-Glu-Ala-OH	L-D	+34,5	25	2%, 0,5 н. HCl	891
└Ala-OH	L				
H-Glu-Ala-OH	L-L	+32,8	23	2%, 0,5 н. HCl	891
└Ala-OH	D				
H-Glu-Ala-OH	L-L	—15,4	24	2%, 0,5 н. HCl	891
└Ala-OH	L				
H-Glu-Ala-OH	L-L	+7,9	26	2%, 0,5 н. HCl	891
└Glu-OH	L				
H-Glu-Ala-OH	L-D	+61,2	26	2%, 0,5 н. HCl	891
└Gly-OH	—				
H-Glu-OH	L	—	—	—	58
└(α-NH_2-*n*-But)-OH	L				
H-Glu-OH	L	—29	20	2,4%, H_2O	58
└(α-NH_2-*n*-But)-Gly-OH·$^1/_2$ H_2O	L				
H-Glu-Asp-OH	L-L	+30,2	18	2,3%, H_2O	610
H-Glu-OH	L	+19,5	18	2%, H_2O+1 экв. HCl	691
└Asp-OH	L				
H-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	L-L	+17,1р	21	1,5%, H_2O	*435*, 790, 868
H-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-CySBz-OH	3L	—26	25	1%, H_2O	482a
H-Glu-CySBz-OH	L-L	—	—	—	767
H-Glu-CySH-OH	L-L	+3,2	18	2%, H_2O	481
H-Glu-OH	L	+13,6	—	1,1%, H_2O	*10*, 874
└CySH-OH	L				
H-Glu-OH	L	+2,9	28	2,5%, H_2O	874
└CySH-OH·HCl	L				
H-Glu(NH_2)-CySH-OH	L-L	—9,8	—	3%, H_2O	474
H-Glu(NH_2)-CySBz-OH	L-L	—	—	—	432a
H-Glu-CySH-Gly-OH·H_2O	L-L	+2,5	25	2%, H_2O	932
H-Glu-OH	D	—34,6	15	1,9%, H_2O	961
└CySH-Gly-OH	L				

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	Литература
H-Glu-OH	L	—21,3	27	2%, H_2O	10, *11*, 475, 477, 549, 606, 872
└CySH-Gly-OH	L				
H-Glu-OH	L	—120	—	1%, H_2O	10
└CyS-OH	L				
│					
┌CyS-OH	L				
H-Glu-OH	L				
H-Glu(NH_2)-CyS-OH	L-L	—119	—	1%, 0,046 н. HCl	474
│					
H-Glu(NH_2)-CyS-OH	L-L				
H-Glu-OH	L	+8,7	23	1%, 0,5 н. HCl	934
└Glu-(NH_2)-OH	L				
H-Glu-Glu-OH	L-D	+56,4	24	1—2%, 0,5 н. HCl	898
H-Glu-OH	L	+36,7	22	1—2%, 0,5 н. HCl	898
└Glu-OH	D				
H-Glu-Glu-OH	L-L	+18,2[с]	24	1—2%, 0,5 н. HCl	128, 767, *898*
H-Glu-OH	L	+3,8[т]	24	1—2%, 0,5 н. HCl	679, 691, 692, *898*
└Glu-OH	L				
H-Glu(NH_2)-Glu-OH	L-L	+15	18	4,8%, 1 н. HCl	767, *882*
H-Glu-OH	L	+3,6	22	1,6%, 1 н. HCl	767
└Glu-OH·H_2O	L				
H-Glu-Glu-Glu-OH	3L	—7,2	19	1,4%, H_2O	881
H-Glu OH	L	—7,2	24	2%, 0,5 н. HCl	891
└Glu-OH	L				
└Glu-OH	L				
H-Glu-OH	DL	—	—	—	527
└Gly-OH					
H-Glu-OH	D	+8,1	21	3%, H_2O	433
└Gly-OH					
H-Glu-Gly-OH	L	+79,5	—	2%, H_2O	*675*, 726, 890
H-Glu-OH	L	+11,1	14	2,5%, H_2O	675 *691*, 692, 693, 767, 890
└Gly-OH					
H-Glu(NH_2)-Gly-OH	L	+78	22	1,7%, H_2O	482, *619*, 701, 767, 790, 882, 890
H-Glu-OH	DL	—	—	—	883
└Gly_2-OH·H_2O					
H-Glu-Gly_2-OH	L	—	—	—	*610*, 767
H-Glu-OH	L	+9,4	12	2,8%, H_2O	*691*, 767
└Gly_2-OH					
H-Glu-His-Phe-Arg-OH	4L	—5,0	26	2,0%, H_2O	713
H-Glu-Leu-OH	L-L	+8,6	18	1,8%, H_2O+1 экв. HCl	*610*, 675
H-Glu-OH	L	—17,6[у]	26	2%, H_2O	605, 675, *692*
└Leu-OH	L				
H-Glu(NH_2)-Leu-OH	L-L	+11,5	22	1%, 1 н. HCl	*619*, 790
H-Glu(NH_2)-OH	L	+2	25	2%, 50%-ный EtOH	790
└Leu-OH	L				
H-Glu-Met-OH	L-L	+18,8	25	1,1%, H_2O	627
H-Glu-Phe-OH	L-L	+27,0	25	2%, H_2O+1 экв. HCl	962
H-Glu-Tyr-OH	L-L	+30,1	19	2,3%, H_2O+1 экв. HCl	*378*, 675, 890
H-Glu-OH	L	+25,6	15	2,1%, H_2O	675, *691*, 894
└Tyr-OH	L				
H-Glu-Val-OH	L-L	+24,5	15	2,7%, H_2O+1 экв. HCl	610
H-Glu-OH	L	0	19	2,4%, H_2O	605
└Val-OH	L				
H-Glu(NH_2)-Val-OH	L-L	+22,5	22	1%, 1 н. HCl	619
N-Глицилпроизводные					
H-Gly-Ala-OH	DL	—	—	—	127
H-Gly-Ala-OH	L	—59,3[ф]	25	2%, 0,5 н. HCl	214, 253, *666*, 797, 935, 949, 957

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	Удельное вращение: температура, °C	Удельное вращение: концентрация и растворитель	Литература
H-Gly-Ala$_2$-OH	L-D	—14[x]	23	2%, 6 н. HCl	703, *949*
H-Gly-Ala$_2$-OH	L-L	—103,0[ц]	23	2%, 0,5 н. HCl	*703*, 949
H-Gly-Ala$_2$-Gly-OH	D-D	+104,8	20	2,9%, H_2O	951
H-Gly-Ala-Gly-OH	DL	—	—	—	330
H-Gly-Ala-Gly-OH	D	+65,5	24	2%, 0,5 н. HCl	703
H-Gly-Ala-Gly-OH	L	—65,3	24	2%, 0,5 н. HCl	215, *703*
H-Gly-β-Ala-Gly-OH	—	—	—	—	899, 963, 964
H-Gly-Ala-Gly-Tyr-OH	L-L	+18,4	20	2,6%, H_2O	215, 931
H-Gly-Ala-Leu-OH	L-L	—87	22	0,6%, 0,1 н. HCl	*494*, 954
H-Gly-Ala-Leu-Glu-OH	3L	—	—	—	710
H-Gly-Ala-Leu-Ileu-OH	3L	—80,6	20	0,9%, 1 н. HCl	956
H-Gly-Ala-Tyr-OH	L-L	—4,8	20	4,3%, H_2O	216
H-Gly-(α-NH_2-isoBut)-OH	—	—	—	—	254, 466
H-Gly-(α-NH_2-*n*-But)-OH	D	+31,0	26	2%, H_2O	254
H-Gly-(α-NH_2-*n*-But)-OH	L	—31,0	25	2%, H_2O	253
H-Gly-Arg-OH·HOAc	L	+1,6	25	4,3%, H_2O	491
H-Gly-Arg-OH·(1/2 H_2SO_4)	L	—	—	—	492
H-Gly-Asp(NH_2)-OH	DL	—	—	—	685
H-Gly-Asp-OH	DL	—	—	—	674
H-Gly-Asp-OH	D	—12,5	25	2%, H_2O	253
H-Gly-Asp(NH_2)-OH	L	—7,8	27	5%, H_2O	143, 253, *482*, 674
H-Gly-Asp-OH	L	+12,0	25	5%, H_2O	218, 253, 613a, *672*
H-Gly-Asp(NH_2)-Leu-OH	L-L	—46,8	20	4,8%, 1 н. HCl	144
H-Gly-CySH-OH·HCl	L	+2,5	25	2%, H_2O	518, 866, *960*
H-Gly-CyS-OH | H-CyS-OH·1 1/2 H_2O	L L	—189	25	1%, H_2O	876
H-Gly-Glu(NH_2)-OH	DL	—	—	—	674
H-Gly-Glu-OH	L	—6,8	25	5%, H_2O	221, *253*, 552, 649, 677
H-Gly-Glu(NH_2)-OH·H_2O	L	—2,4	27	5,8%, H_2O	*482*, 953
H-Gly-Glu-Gly-OH	L	—	—	—	878
H-Gly-Glu(NH_2)-Gly-OH	L	—28,4	19	6%, H_2O	953
H-Gly-Glu-Tyr-OH	L-L	—	—	—	709
H-Gly$_2$-OH	—	—	—	—	10, 103, 127, 253, 464, 494, 518, 547, 548, 551, 552, 573, 665, 751, 900, 965
H-Gly$_2$-OH·HCl·H_2O	—	—	—	—	179
H-Gly$_2$-Ala-OH	DL	—	—	—	330, 910
H-Gly$_2$-Ala-OH	D	+36,5	25	2%, H_2O	254
H-Gly$_2$-Ala-OH	L	—36,3	25	2%, H_2O	254
H-Gly$_2$-β-Ala-OH	—	—	—	—	899
H-Gly$_2$-Ala-Gly-OH	D	+53,7	20	3%, H_2O	966
H-Gly-CyS-OH | H-Gly-CyS-OH	L L	—108[ч]	24	0,8%, 1 н. HCl	228, 590, 617, 866, *936*
H-Gly$_3$-OH	—	—	—	—	212, 494, 551, 665, 814
H-Gly$_4$-OH	—	—	—	—	213
цикло-Gly$_4$	—	—	—	—	806
H-Gly$_5$-OH	—	—	—	—	213
H-Gly$_6$-OH	—	—	—	—	156
цикло-Gly$_6$	—	—	—	—	806
H-Gly$_3$-Leu-Gly-OH	L	—28,4	24	2,5%, H_2O	878
H-Gly$_3$-Pro-OH·1/2 H_2O	L	—78,5	24	1,2%, H_2O	170
H-Gly$_2$-Hypro-OH	L	—97,7	26	2,8%, H_2O	169
H-Gly$_2$-Leu-OH	DL	—	—	—	330
H-Gly$_2$-Leu-OH	D	+27,5	26	2%, H_2O	911
H-Gly$_2$-Leu-OH	L	—28,0	26	2%, H_2O	911
цикло-(Gly$_2$-Leu)	D	—	—	—	918
H-Gly$_2$-Leu-Gly-OH	L	—43,2	24	2,5%, H_2O	878
цикло-(Gly$_2$-Leu-Gly$_2$-Leu)	L-L	—44,4	25	0,3%, HOAc	812a, 812в
цикло-(Gly$_2$-Leu-Gly-Leu)	L-D	—	—	—	812a
цикло-(Gly$_2$-Leu-Gly-Leu)	L-L	—8,7	20	3%, CF_3COOH	*811*, 812a
H-Gly$_2$-Phe-OH	DL	—	—	—	330

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
H-Gly$_2$-Phe-OH	L	+35,6	25	1%, H_2O	665
цикло-(Gly$_2$-Pro)	DL	—	—	—	967
H-Gly$_2$-Pro-OH·$^1/_2H_2O$	L	—101,5 ш	26	2,2%, H_2O	169
H-Gly$_2$-Thr-OH	DL	—	—	—	968
H-Gly$_2$-Try-OH	DL	—	—	—	751
H-Gly$_2$-Tyr-OH	L	+42,3	20	1,6%, H_2O	931
H-Gly-His-OH·HCl	L	+25,0	26	1%, H_2O	837
H-Gly-His-Tyr-OH	L-L	—	—	—	537
H-Gly-Hypro-OH	L	—128,4	26	1,8%, H_2O	169
H-Gly-allo-Hypro-OH	L	—86,0	21	2,4%, H_2O	657
H-Gly-(O-Me-Hypro)-OH	L	—99,5	21	1%, H_2O	657
H-Gly-Ileu-OH	D	+14,0	25	2%, H_2O	*253*, 969, 970
H-Gly-allo-Ileu-OH	D	+5,4	26	2%, H_2O	254
H-Gly-Ileu-OH	L	—14,1	25	2%, H_2O	*253*, 955, 970
H-Gly-allo-Ileu-OH	L	—5,2	25	2%, H_2O	253
H-Gly-Ival-OH	DL	—	—	—	254
H-Gly-Ival-OH	D	+7,0	26	4%, 2,5 н. HCl	254
H-Gly-Ival-OH	L	—7,1	26	4%, 2,5 н. HCl	254
H-Gly-Leu-OH	DL	—	—	—	127
H-Gly-Leu-OH	D	+35,7	25	3%, H_2O	469
H-Gly-Leu-OH	L	—36,3	25	2%, H_2O	223; *253*, 462, 625, 723
H-Gly-*t*-Leu-OH	DL	—	—	—	371
H-Gly-Leu-Ala-OH	L-L	—59,0	20	2,5%, H_2O	954
H-Gly-Leu-CyS-OH	L-L	—108,9	20	0,7%, H_2O	617
H-Gly-Leu-CyS-OH	L-L				
H-Gly-Leu-Gly-OH	DL	—	—	—	330
H-Gly-Leu-Gly-OH	D	+42,6	26	2%, H_2O	911
H-Gly-Leu-Gly-OH	L	—41,8	22	1,9%, H_2O	464, *694*, 878
H-Gly-Leu-Gly-Leu-OH	L-L	—52,6	26	1,5%, 1 н. HCl	*694*, 971
H-Gly-Leu$_2$-OH	L-D	0	22	1,5%, 1 н. HCl	694
H-Gly-Leu$_2$-OH	L-L	66,7щ	22	1,7%, 1 н. HCl	*694*, 972
H-Gly-Leu$_3$-OH	3L	—78,6	20	2%, 1 н. NaOH	972
H-Gly-Leu$_4$-OH	4L	—118,1	20	2,5%, 1 н. NaOH	972
H-Gly-Lys-OH	L	—9,0	25	2%, 6 н. HCl	949
H-Gly-Lys-OH·HCl	L	—12,8	25	2%, 0,5 н. HCl	550, 613a, *66*.
H-Gly-Lys-OH·($^1/_2$ H_2SO_4)	L	—10,0	25	5%, H_2O	253
H-(N^ε-Gly-Lys)-OH·HOAc	L	+85	16	1,1%, H_2O	972*a*
H-(N^ε-Cbzo-Gly-Lys)-OH	L	+8,7	16	1,0%, HOAc	972*a*
H-(N^ε-Tos-Gly-Lys)-OH	L	+12	25	1,4%, HOAc	439
H-Gly-Lys-Glu-OH	L-L	—33	20	1%, H_2O	550
H-Gly-Lys-Gly-OH·HCl	L	—32,1	25	2%, 0,5 н. HCl	706
H-Gly-Met-OH	DL	—	—	—	253, 464
H-Gly-Met-OH	D	+10,2	26	2%, H_2O	*254*, 627
H-Gly-Met-OH	L	—10,2	25	2%, H_2O	*253*, 627, 973
H-Gly-Nleu-OH	D	+16,2	26	2%, H_2O	254
H-Gly-Nleu-OH	L	—16,0	25	2%, H_2O	253
H-Gly-Nval-OH	D	+27,6	26	2%, H_2O	254
H-Gly-Nval-OH	L	—27,5	25	2%, H_2O	253
H-Gly-Phe-OH	DL	—	—	—	415, 464, 518, 613a, 900
H-Gly-Phe-OH	D	—41,7	21	2%, H_2O	962
H-Gly-Phe-OH	L	+41,5	25	2%, H_2O	224, *253*, 548, 613a, 665
H-Gly-Phe-Ala-OH	L-L	—5,0	20	2%, 1 н. HCl	611a
H-Gly-Phe-Glu-OH	D-L	—11,3	20	4,7%, H_2O	974
H-Gly-Phe-Glu-OH	L-L	—4,7	20	4,7%, H_2O	974
H-Gly-Phe-Gly-OH	DL	—	—	—	330
H-Gly-Phe-Gly-OH	L	+15,7	25	5,6%, 0,2 н. HCl	548, *548*a
H-Gly-Pro-OH	DL	—	—	—	170, 705
H-Gly-Pro-OH	L	—113,8	20	3,9%, H_2O	940
H-Gly-Pro-Gly-OH·2H_2O	DL	—	—	—	170
H-Gly-Pro-Gly-OH	L	—108,4	21	1%, H_2O	*823*, 941
H-Gly-Ser-OH	DL	—	—	—	502, 551, 552, 829, 913a

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
H-Gly-Ser-OH	D	+9,2	25	5%, H_2O	253
H-Gly-Ser-OH	L	—9,2	27	—, H_2O	253, *502*, 631
H-Gly-(O-Bz-Ser)-OH	DL	—	—	—	829
H-Gly-Ser-Gly-OH	DL	—	—	—	913a
H-Gly-Thr-OH	DL	—	—	—	968
H-Gly-Thr-OH	D	+16,0	25	2%, H_2O	253
H-Gly-Thr-OH	L	—16,2	25	2%, H_2O	253
H-Gly-Try-OH	DL	—	—	—	464, 547, 552, 751
H-Gly-Try-OH	D	—34,2	26	2%, 5 н. HCl	254
H-Gly-Tyr-OH	L	+34,3	25	2%, 5 н. HCl	226, *253*, 975
H-Gly-Tyr-OH	D	—44,2	26	2%, H_2O	254
H-Gly-Tyr-OH	L	+44,0	25	1%, H_2O	213, *253*, 830, 962
H-Gly-(I_2-Tyr)-OH	L	+52,7	20	5%, NH_4OH	220
H-Gly-Tyr-Gly-OH	L	+24,1	20	4,1%, H_2O	931
H-Gly-Val-OH	DL	—	—	—	552, 965
H-Gly-Val-OH	D	+20,0	25	2%, H_2O	253
H-Gly-Val-OH	L	—19,9	25	2%, H_2O	185, *253*, 976
H-Gly-Val-Gly-OH·$1^1/_2H_2O$	DL	—	—	—	942
N-*Гистидилпроизводные*					
H-His-Ala-OH	L-L	—27	22	1%, 0,1 н. NaOH	695
H-His-Gly-OH	L	+25	—	2%, H_2O	789
H-His-Gly-OH·HCl·$^1/_2H_2O$	L	—8,4[э]	20	1%, H_2O	621
H-His-Leu-OH	L-L	+13	—	2%, 1 н. HCl	695, *789*
H-His-Phe-OH	L-L	+33,8	27	2,6%, 1 н. HCl	713
H-His-Phe-OH·HCl·H_2O	L-L	—2,1	20	1%, H_2O	621
H-His-Phe-Arg-OH	3L	+3,0	25	2,8%, H_2O	713
H-His-Phe-NO_2-Arg-OH	3L	+23,2	25	1,9%, 1 н. HCl	713
H-His-Phe-Arg-Try-Gly-OH·HOAc·$2H_2O$	4L	—10,0	27	0,9%, 1 н. HCl	791
N-*Оксипролил-* и N-*алло-оксипролилпроизводные*					
H-Hypro-Ala-OH	L-L	—60,3	22	1%, H_2O	642
H-Hypro-Asp-OH	L-L	—23,3	22	1%, H_2O	642
H-Hypro-Glu-OH	L-L	—35,8	22	1%, H_2O	642
H-Hypro-Gly-OH	L	—22,4	26	7,7%, H_2O	169
H-allo-Hypro-Gly-OH	D	+11,3	20	1%, H_2O	487
H-allo-Hypro-Gly-OH	L	—11,1[aa]	20	1%, H_2O	487
H-Hypro-Gly_2-OH	L	—13,2	21	1%, H_2O	823
H-Hypro-Leu-OH	L-L	—62,5	20	1%, 1 н. HCl	642
H-Hypro-Phe-OH	L-L	—30,8	20	1%, 1 н. HCl	642
H-Hypro-Try-OH	L-L	—	—	—	769
H-Hypro-Tyr-OH	L-L	—8,7	22	1%, H_2O	642
N-*Изолейцил-* и N-*алло-изолейцилпроизводные*					
H-allo-Ileu-Ala-OH	D-D	—23,9	27	2%, H_2O	454
H-Ileu-Ala-OH	L-D	+81,5	27	2%, H_2O	454
H-allo-Ileu-Ala-OH	L-D	+92,0	27	2%, H_2O	454
H-Ileu-Asp(NH_2)-OH	L-L	+21,2	25	5%, H_2O	464
H-$Ileu_2$-OH	L-L	+17,1	25	1%, H_2O+1 экв. HCl	914a
H-Ileu-Gly-OH	L	+33,6	20	6%, H_2O	955
H-Ileu-Phe-OH	L-L	—	—	—	456
N-*Лейцилпроизводные*					
H-Leu-β-Ala-OH	DL	—	—	—	963
H-Leu-β-Ala-OH	L	+28,0	26	5%, H_2O	899
H-Leu-Ala-OH	L-D	+80	27	1%, H_2O	466, *467*
H-Leu-Ala-OH	L-L	+22,9	24	5%, MeOH	157, *466*, 467
H-Leu-Ala-CyS-OH	3L	—115,3	20	0,7%, H_2O	617
H-Leu-Ala-CyS-OH	3L				
H-Leu-Ala-Gly-OH	L-L	—17,3	20	1,2%, H_2O	954
H-Leu-Ala-Val-Phe-Gly-Pro-OH·$3H_2O$	5L	—56,3	23	0,7%, 3 н. HCl	915
H-Leu-Asp(NH_2)-OH	D-L	—53,8	20	5%, H_2O	144
H-Leu-Asp(NH_2)-OH	L-L	+15,7	25	5%, H_2O	144, *672*, 674
H-Leu-Asp-OH	L-L	+27,1	20	6%, H_2O	218
H-Leu-CySBz-Gly-OH	L-L	—9,7	20	1%, 1 н. HCl	432a

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
H-Leu-Glu-OH	L-L	+10,5	24	2%, 1 н. HCl	229, *912*
H-Leu-Glu(NH_2)-OH	L-L	+12,6	18	3,7%, 1 н. HCl	674, *953*
H-Leu-Glu-Leu-OH·H_2O	3L	—26,8	19	1,4%, 0,5 н. HCl	881
H-Leu-Gly-OH	DL	—	—	—	127, 613a, 805
H-Leu-Gly-OH	L	+85,8	24	2%, H_2O	157, 613a, 805, *878*
H-Leu-Gly-Ala-OH	L-L	+20,3	20	10%, H_2O	223, 977
H-Leu-Gly-Asp-OH	L-L	+55,3	20	5%, H_2O	218
H-Leu-Gly_2-OH	DL	—	—	—	611a
H-Leu-Gly_2-OH	L	+57,7	25	5%, H_2O	158, *179*, 353, 611a
H-Leu-Gly_3-OH	L	+45,9	20	9,6%, H_2O	*157*, 611a
H-Leu-Gly_6-OH	L	+5,2	20	3,7%, 0,1 н. NaOH	158
H-Leu-Gly_7-OH	L	+6,3	20	6%, H_2O+1 экв. NaOH	230
H-Leu-Gly_3-Leu-OH	L-L	+21,3	20	2,4%, H_2O	223
H-Leu-Gly-Ileu-OH	L-D	+41,2	20	2%, 0,2 н. HCl	978
H-Leu-Gly-Ileu-OH	L-L	+26,5	20	3%, H_2O	969, 978
H-Leu-Gly-Leu-OH	L-L	+5,6	26	2,5%, 1 н. HCl	694, 971
H-Leu-Gly-Try-OH	L-L	+32,3	20	8%, 1 н. HCl	226
H-Leu-His-OH	L-L	+32,1	18	5%, H_2O	231
H-Leu-Ileu-OH	L-D	+58,4	24	1%, H_2O	*622*, 969
H-Leu-Ileu-OH	L-L	+20,9[бб]	23	1%, H_2O	*622*, 955, 956
H-Leu_2-OH·H_2O	L-D	+74,4	27	1%, 1 н. HCl	*622*, 625
H-Leu_2-OH	D-D	+13,9	25	4,5%, 1 н. NaOH	198, 232
H-Leu_2-OH	D-L	—68,0	20	9,4%, 1 н. HCl	232
H-Leu_2-OH	L-D	+68,9	20	9,7%, 1 н. HCl	232
H-Leu_2-OH	L-L	—13,4	23	1%, 1 н. NaOH	157, 462, 464, 601, 622, 625, 834, 930, *979*
H-Leu-CyS-OH | H-Leu-CyS-OH	L-L L-L	—136,6	20	4%, 1 н. HCl	219, 617
H-Leu_2-Gly-OH	L-L	—	—	—	455
H-Leu_3-OH	3D	+46,0	25	6,5%, 1 н. NaOH	198
H-Leu_3-OH	3L	—51,4	20	3,1%, 1 н. NaOH	972
H-Leu_4-OH	4L	—90,0	20	7,6%, 1 н. NaOH	972
H-(N^{ε}-Tos-Leu-Lys)-OH·HCl	L-L	—17	25	1,2%, HOAc	439
H-Leu-Phe-OH·$2H_2O$	L-D	+25,0[вв]	17	2,4%, HOAc	*373*, 622
H-Leu-Phe-OH·H_2O	L-L	+9,7	26	1%, H_2O	622
H-Leu-Pro-Tyr-OH	3L	—7,5	25	2,1%, H_2O	980
H-Leu-Try-OH	L-L	+4,5	20	7%, 1 н. HCl	226
H-Leu-Try-Glu-OH	3L	+17,4	20	4%, 1 н. HCl	981
H-Leu-Tyr-OH	L-L	+22,6	25	1%, H_2O	216, *830*
H-Leu-Val-OH·H_2O	L-D	+55,3	24	1%, H_2O	622
H-Leu-Val-OH·H_2O	L-L	+18,2[гг]	23	1%, 1 н. HCl	185, *622*, 957
N-*Лизилпроизводные*					
H-Lys-Ala-OH·HCl	L-D	+80,4	24	2%, 0,5 н. HCl	667
H-Lys-Ala-OH	L-D	+70,9	26	2%, 6 н. HCl	949
H-Lys-Ala-OH	L-L	—1,9	25	2%, 6 н. HCl	949
H-Lys-Ala-OH·HCl	L-L	+2,7	24	2%, 0,5 н. HCl	667
H-Lys-Arg-OH·2HOAc	L-L	+15,5	25	2,1%, H_2O	491
H-Lys-Asp-OH	L-L	+23	20	1,3%, H_2O	831
H-Lys-Glu-OH	L-L	+22,9	19	3,1%, H_2O	550, *626*
H-Lys-Gly-OH	L	+31,1	24	2%, 6 н. HCl	949
H-Lys-Gly-OH·HCl	L	+40,7	25	2%, 0,5 н. HCl	550, 613a, *667*
H-Lys-Gly-OH·($^1/_2H_2SO_4$)	L	+30,0	22	1,5%, H_2O	831
H-Lys-Gly_2-Glu-OH	L-L	+33,5	20	1%, H_2O	649
H-Lys-His-OH·($^1/_2H_2SO_4$)	L-L	+35,3	20	1,3%, H_2O	626
H-Lys_2-OH	L-L	+5,6	25	2%, 6 н. HCl	715, *949*
H-Lys_2-OH	L-D	+39,6	23	2%, 6 н. HCl	949
H-Lys_2-OH·3HCl·H_2O	L-L	+8,2	24	2%, 0,5 н. HCl	667
H-Lys_2-OH·2HCl	L-D	+44,7	24	2%, 0,5 н. HCl	667
H-Lys_2-OH·3HBr	L-L	—	—	—	833
H-N^{ε}-(diCbzo-Lys)-Lys-OH (сульфат)	L-L	—	—	—	972a
H-Lys_3-OH·3HCl	L-2D	+54,9	22	2%, 0,5 н. HCl	706

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение: $[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	Литература
H-Lys_3-OH·3HCl	L-D-L	+27,7	22	2%, 0,5 н. HCl	706
H-Lys_3-OH·3HCl	3L	—2,2	24	2%, 0,5 н. HCl	706
H-Lys_3-OH	3L	—	—	—	715
H-Lys_4-OH	4L	—	—	—	715
H-Lys_5-OH	5L	—	—	—	715
H-Lys-Tyr-OH·HOAc	L-L	+17,0	15	5%, H_2O	834
H-Lys-Tyr-Lys-OH·2HCl	3L	+22,4	20	1,6%, 0,5 н. HCl	584a
H-Lys-Val-Phe-Gly-OH·EtOH·LiBr	3L	—8,3	24	2%, 1 н. HCl	507
N-*Метионилпроизводные*					
H-Met-Glu-OH	L-L	+18,6	28	2,6%, 1 н. HCl	*444*, 982
H-Met-Glu(OBz)-OH	L-L	+16,1	22	1,9%, 1 н. HCl	471a
H-Met-Gly-OH	DL	—	—	—	464, 627, 789
H-Met-Gly-OH	D	—88,0	23	1,1%, H_2O	627
H-Met-Gly-OH	L	+86,8 дд	21	2%, H_2O	444, *627*
H-Met-Gly_2-OH	L	+73,1	23	1,9%, H_2O	627
H-Met_2-OH	L-D	+75,8	25	1%, H_2O	929
H-Met_2-OH	L-L	+27,0	24	2%, H_2O	*490*, 627, 929
H-Met_3-OH	3L	—70	16	1%, H_2O	490
H-Met-Tyr-OH	L-L	+18,6	22	2,1%, 0,2 н. HCl	627
N-*Фенилаланилпроизводные*					
H-Phe-Ala-OH	L-L	+12,8	20	2%, H_2O	611a
H-Phe-β-Ala-OH	DL	—	—	—	464
H-Phe-Arg-OH·HOAc	L-L	+7,0	23	3,2%, H_2O	491
H-Phe-NO_2-Arg-OH·$^1/_2H_2O$	L-L	+22,5	21	8,9%, H_2O	713
H-Phe-Glu-OH	L-L	+20,3	20	4,8%, H_2O	123
H-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH	3L	+0,1	21	4,9%, 0,15 н. HCl	440
H-Phe-Gly-OH	DL	—	—	—	464, 495, 943
H-Phe-Gly-OH·H_2O	L	+95,6[ee]	22	2,1%, H_2O	224, *507*, 522, 665, 586
H-Phe-Gly-OH·$2H_2O$	L	+100,0	20	2,4%, H_2O	495
H-Phe-Gly_2-OH	DL	—	—	—	518
H-Phe-Gly_2-OH	L	+79,4	25	1,8%, H_2O	665
H-Phe-Gly_3-OH	L	+65,3	25	2%, H_2O	665
H-Phe-Gly-Phe-OH·H_2O	L-L	+45,5	25	1,7%, 1 н. HCl	665
H-Phe-Hypro-OH	L-L	—29,1	20	1%, H_2O	642
H-Phe-Leu-OH	D-D	—	—	—	469
H-Phe-Leu-OH	L-L	—21	22	1%, 1%-ный $NaHCO_3$	494
H-(N^ε-Phe-Lys)-OH·$^1/_2H_2O$	L-L	+47,1	13	1,1%, H_2O	972a
H-(N^ε-Cbzo-Phe-Lys)-OH	L-L	—	—	—	972a
H-Phe-Pro-OH	D-L	—96	18	2,4%, HOAc	373
N-*Пролилпроизводные*					
H-Pro-Ala-OH	L-L	—66,3	20	4,9%, H_2O	980
H-Pro-Arg-OH·HOAc	L-L	—28,6	27	2,6%, H_2O	491
H-Pro-Asp-OH	L-L	—34,8	23	1%, H_2O	642
H-Pro-Glu-OH	L-L	—49,0	25	2%, H_2O	941
H-Pro-Gly-OH	DL	—	—	—	464
H-Pro-Gly-OH	L	—22,5	20	0,1%, H_2O	168, 170, *576*, 613a, 980, 983
H-Pro-Gly_2-OH	L	—22,1	21	1%, H_2O	823
H-Pro-Gly-Phe-OH	L-L	+14,8	18	2%, H_2O	611a
H-Pro-Hypro-OH	L	—160,3	21	1%, H_2O	823
H-Pro-Leu-OH	L-L	—73,5	20	0,7%, 1 н. HCl	168
H-Pro-Phe-OH	L-L	—41,7	25	1,7%, 6 н. HCl	200, 252, *508*, 980, 638a
H-Pro_2-OH	L-L	—160,2	21	1%, H_2O	823
H-Pro-Ser-OH	L-L	—47,9	20	3,1%, H_2O	980
H-Pro-Tyr-OH	L-L	—7,8	20	1,7%, H_2O	168, 983
H-Pro-Val-OH·H_2O	L-L	—61	20	1,7%, H_2O	373
N-*Серилпроизводные*					
H-Ser-Ala-OH	L-L	—30,4	26	6%, 1 н. HCl	501
H-Ser-Ala-Glu-OH	3L	—32,9	24	2%, H_2O	631
H-Ser-Glu-OH	L-L	—9,4	25	6%,1 н. HCl	501
H-Ser-Gly-OH	DL	—	—	—	913a, 984

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
H-Ser-Gly-OH	L	+30,2	26	6%, 1 н. HCl	501
H-(O-Bz-Ser)-Gly-OH	DL	—	—	—	984
H-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-OH·$1^1/_2H_2O$	3L	—54,5	25	2%, H_2O	717a
H-Ser-Gly_2-OH	L	+32,5	25	5,4%, 1 н. HCl	699
H-Ser-Gly-Glu-OH	L-L	+20,4	24	2%, H_2O	631
H-Ser-Gly-Ser-OH	L-L	+25,2	25	1,1%, H_2O	631
H-Ser-His-OH·HBr	L-L	+26,4	13	3%, H_2O	828
H-Ser-His-Leu-OH·H_2O	3L	—25,3	13	1%, H_2O	828
H-Ser-His-Leu-Val-Glu-OH·H_2O	5L	—55,8	25	1%, H_2O	*718*, 915a
H-Ser-Met-OH	L-L	—11,4	27	5,6%, 1 н. HCl	444
H-Ser-Met-Glu-OH	3L	—26,1	25	1%, H_2O	*444*, 982
H-Ser_2-OH	L-L	+14,2	25	7%, 1 н. HCl	501
H-Ser-Tyr-OH	L-L	+38,4	24	1%, H_2O	*444*, 537
H-Ser-Tyr-Met-Glu-OH	4L	—8,6	25	1%, H_2O	444
H-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-OH	5L	—20,6	25	2%, 2 н. HCl	*444*, 982
N-*Треонил-* и *N-алло-треонилпроизводные*					
H-Thr-Ala-OH	L-D	+95,3	27	2%, H_2O	454
H-allo-Thr-Ala-OH	L-D	+87,5	27	2%, H_2O	454
H-Thr-His-Leu-Val-Glu-OH·H_2O	5L	—	—	—	504a
N-*Триптофилпроизводные*					
H-Try-Glu-OH	L-L	+34,4	20	4,5%, H_2O	981
H-Try-Gly-OH	DL	—	—	—	551, 789
H-Try-Gly-OH	L	+81,7	26	1,7%, H_2O	226, *791*
H-Try-Lys-Leu-Ala-Val-Phe-Gly-Pro-OH·HOAc × × $6H_2O$	7L	+15,3	24	0,8%, H_2O	915
N-*Тирозилпроизводные*					
H-Tyr-Arg-OH	D-L	—105,7	23	6,4%, 0,2 н. HCl	125
H-Tyr-Asp-OH	L-L	+20,4	19	3,6%, H_2O+1 экв. HCl	378
H-Tyr-CySH-OH	L-L	+22,6	23	5%, 1 н. HCl	*646*, 917
H-Tyr-CyS-OH	L-L	—70,8	23	5%, 1 н. HCl	646
H-Tyr-CyS-OH	L-L				
H-Tyr-Gly-OH	L	+82,6ж	22	2%, H_2O	*353*, 803, 826, 830, 931, 962
H-Tyr-Gly_2-OH	L	+43,1	22	2,7%, 20%-ная HCl	*353*, 931
H-Tyr-Leu-OH	L-L	+6,3	21	3,2%, 0,5н HCl	584a
H-Tyr-Phe-Glu(NH_2)-Asp(NH_2)-OH·HBr	4L	+6,3	21	1%, H_2O	822
H-Tyr-Ser-OH	L-L	+24,2	22	1,6%, н HCl	471a
H-Tyr_2-OH	L-L	+30,1	19	4%, H_2O+1 экв. HCl	353, *378*
H-Tyr_3-OH·$2H_2O$	3L	—	—	—	637
H-Tyr_4-OH	4L	—	—	—	637
N-*Валилпроизводные*					
H-Val-CySBz-OH·H_2O	L-L	—	—	—	432a
H-Val-Glu-OH	L-L	+3,2	19	1,5%, H_2O	881
H-Val-Glu-Val-OH·$2H_2O$	3L	—16,6	19	2,2%, 0,5н HCl	881
H-Val-Gly-OH	DL	—	—	—	464, 900
H-Val-Gly-OH	L	+102	18	2%, H_2O	185, 586, *613a*
H-Val-Gly_2-OH	DL	—	—	—	380
H-Val-His-OH	L-L	+46	24	4,2%, H_2O	638a
H-Val-Leu-Gly-OH	L-L	—	—	—	464

44 Заказ № 576

Соединение	Конфигурация	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	концентрация и растворитель	
цикло-[Val-Lys-Leu-Phe-Pro]$_2$·2HCl·H_2O	[3L-D-L]$_2$	—	—	—	626a
цикло-[Val-(N^{ε}-Tos-Lys)-Leu-Phe-Pro]$_2$·$^1/_2H_2O$	[3L-D-L]$_2$	—226	22	1,0%, HOAc	*626*a, 814a
H-Val-Orn-OH·HCl·$^1/_2H_2O$	L-L	+19	19	2%, H_2O	373
H-Val-Orn-Leu-Phe-Pro-OH·2HCl	3L-D-L	—62,4	26	0,5%, 0,5 н. HCl	423
H-[Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro]$_2$·2H_2O	[3L-D-L]$_2$	—191	23	1%, HOAc	814a
цикло-[Val-Orn-Leu-Phe-Pro]$_2$·2HCl	[3L-D-L]$_2$	—289	24	0,4%, 70%-ный EtOH	719
H-[Val-Orn-Leu-Phe-Pro]$_2$-OH·3HCl	[3L-D-L]$_2$	—89,2	26	0,3%, 0,5 н. HCl	423
цикло-[Val-(N^{δ}-Tos-Orn)-Leu-Phe-Pro]$_2$·2H_2O	[3L-D-L]$_2$	—188,0	24	0,7%, HOAc	719
H-[Val-Orn-Leu-Tyr-Pro]$_2$·2H_2O	[3L-D-L]$_2$	—143	—	0,03%, 70%-ный MeOH	679a
H-Val-Tyr-OH·2MeOH	L-L	+49	24	4,2%, H_2O	638a
H-Val-Tyr-Val-OH	3L	+24	—	3,3%, 0,1 н. HCl	638a
H-Val-Tyr-Val-His-OH·H_2O	4L	—6	24	2,5%, H_2O	638a
H-Val$_2$-OH	D-D	—10,8	25	2,0%, H_2O	914a
H-Val$_2$-OH	L-D	+59,5	25	2,0%, H_2O	625, *914*a
H-Val$_2$-OH	D-L	—62,1	25	2,0%, H_2O	185, *914*a
H-Val$_2$-OH	L-L	+10,8[зз]	25	2,0%, H_2O	625, *914*a, 971
H-Val$_2$-OH·HCl	L-L	+13,6	25	2,9%, H_2O	543a
H-Val$_2$-OH·HCl	L-D	+51,1	24	2,7%, H_2O	543a
H-Val$_2$-OH·HCl	D-L	—51,7	24	3,3%, H_2O	543a
H-Val$_2$-OH·HCl	D-D	—12,8	25	5,2%, H_2O	543a
H-Val$_3$-OH	3L	—41,8	21	2,7%, 1 н. HCl	543a
H-Val$_3$-OH	2L-D	+2,4	33	1,7%, 1 н. HCl	543a
H-Val$_3$-OH	L-D-L	+39,9	33	3,9%, 1 н. HCl	543a
H-Val$_3$-OH	L-2D	+73,6	33	3,3%, 1 н. HCl	543a
H-Val$_3$-OH	3D	+41,3	21	2,8%, 1 н. HCl	543a
H-Val$_3$-OH	2D-L	—0,4	33	1,8%, 1 н. HCl	543a
H-Val$_3$-OH	D-2L	—71,9	33	3,6%, 1 н. HCl	543a
H-Val$_3$-OH	D-L-D	—	—	—	543a

а $[\alpha]_D^{24}$ +67,2° (2%, 6н. HCl) [949].

б $[\alpha]_D^{26}$ —38,3° (2%, 6 н. HCl) [949]; $[\alpha]_D^{20}$ —21,7° (H_2O) [896].

в $[\alpha]_D^{18}$ —72,2° (3,5%, 2 н. HCl) [950].

г $[\alpha]_D^{20}$ —136,4° (1,9%, 2 н. HCl) [950].

д $[\alpha]_D^{25}$ —50,7° (4,3%, H_2O) [466].

е $[\alpha]_D^{23}$ +51,3° (2,5%, H_2O) [548]; $[\alpha]_D^{24}$ +13,8° (2%, 6 н. HCl) [949].

ж $[\alpha]_D^{20}$ +13,9° (2,6%, 1 экв. водн. HCl) [609].

з $[\alpha]_D^{25}$ +24,8° (1,9%, H_2O) [491].

и $[\alpha]_D^{23}$ +38,9° (5,8%, H_2O) [491]; $[\alpha]_D^{22}$ +47,1% (0,9%, H_2O) [513].

к $[\alpha]_D^{20}$ —18,0° (0,8%, HOAc) [390].

л $[\alpha]_D^{30}$ +74° (H_2O) [476].

м $[\alpha]_D^{27}$ —86,0° (1%, 1 н. HCl) [862].

н $[\alpha]_D^{29}$ +14,5° (50%-ный EtOH) [476].

о $[\alpha]_D^{8}$ +10,1° (1,4%, H_2O) [881].

п $[\alpha]_D^{24}$ —11,5° (1—2%, 0,5 н. HCl) [898]; $[\alpha]_D^{18}$ —22,1° (5%, H_2O) [605].

р $[\alpha]_D^{25}$ +24° (1%, H_2O) [790].

с $[\alpha]_D^{18}$ +19,9° (2%, H_2O+1 экв. HCl) [128].

т $[\alpha]_D^{18}$ +3,9° (4,6%, H_2O+1 экв. HCl) [679]; $[\alpha]_D^{17}$ +6° (1%, H_2O+ +1 экв. HCl) [691].

у $[\alpha]_D^{25}$ —14° (2%, H_2O) [675]; $[\alpha]_D^{19}$ —13,5° (2,3%, H_2O) [605].

ф $[\alpha]_D^{24}$ —52,9° (2%, 6н. HCl) [949]; $[\alpha]_D^{25}$ —51,0° (2%, H_2O) [253].

х $[\alpha]_D^{23}$ —21,7°, (2%, 0,5 н. HCl) [703].

ц $[\alpha]_D^{23}$ —87,9° (2%, 6н. HCl) [949].

ч $[\alpha]_D^{24}$ —87,7° (0,7%, 1 н. NaOH) [590].

ш $[\alpha]_D^{22}$ —92,9° (2,1%, H_2O) для моногидрата [170].

щ $[\alpha]_D^{20}$ —67,0°, (2,9%, EtOH) [972].

э $[\alpha]_D$ —43,5° (1%, 0,1 н. NaOH) [695].

аа $[\alpha]_D^{20}$ —21,0° (1%, H_2O) для моногидрата [985].

бб $[\alpha]_D^{24}$ +26,1° (1%, 1 н. HCl) [622].

вв $[\alpha]_D^{23}$ +29,7° (1%, HOAc) [622].

гг $[\alpha]_D^{23}$ +17,7° (1%, H_2O) [622].

дд $[\alpha]_D^{26}$ +83,0° (1,9%, H_2O) [444].

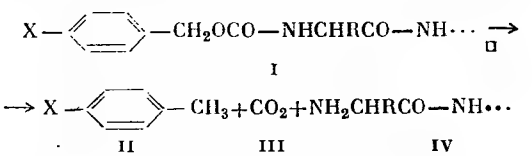
ее $[\alpha]_D$ +84,4° [522], +52,4° [224], +93,5° [665] (H_2O).

жж $[\alpha]_D^{23}$ +70° (3%, H_2O) [803]; $[\alpha]_D^{25}$ +69,1 °(1%, H_2O+1 экв. HCl).

зз $[\alpha]_D^{20}$ —54° (4,3%, H_2O) [971]; вероятно, содержит D-L-форму вследствие инверсии в процессе синтеза.

Амиды и эфиры описаны главным образом в форме соответствующих ацетатов или галогенгидратов, и лишь иногда — в виде свободных оснований, а также пикратов, сульфатов, пикролонатов или других солей; пептиды, содержащие остаток основной аминокислоты (аргинина, лизина или гистидина), также обычно описаны в виде солей с органическими и неорганическими кислотами.

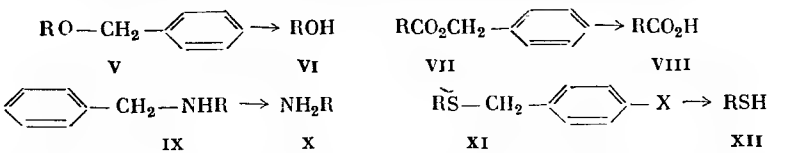
44. Каталитический гидрогенолиз. *Принцип.* Восстановительное действие водорода в присутствии таких катализаторов, как палладиевая чернь, палладированный уголь или окись палладия, может быть использовано для легкого отщепления бензильной группы, связанной ковалентной связью с атомами кислорода, азота и в некоторых случаях серы. Эта реакция с успехом была использована для количественного отщепления карбобензоксигруппы, соединенной амидной связью с α-аминогруппой соответствующего производного аминокислоты или пептида (I → IV; X = H). В ходе этой реакции бензильный остаток элиминируется в виде толуола (II; X = H) с одновременным выделением двуокиси углерода (III), по-видимому, в результате спонтанного распада неустойчивых промежуточных N-карбоксиаминокислот



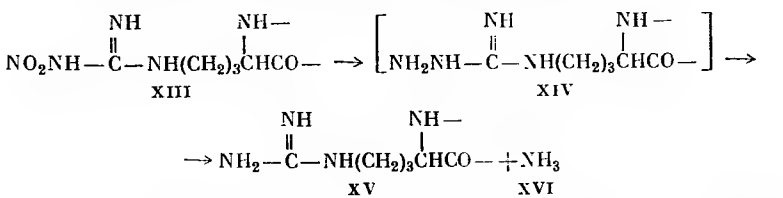
[128]. Аналогично проводят деацилирование и в тех случаях, когда карбобензоксигруппа служит защитой гидроксильной функции остатка оксиаминокислоты, например тирозина [826], а также ω-аминогруппы диаминокислоты (например, лизина [626]) или гуанидиновой группировки аргинина [459, 904, 905]. Такого же рода восстановительная деградация может быть использована в случае *п*-нитрокарбобензокси- (I; X = NO_2) [363, 462], *п*-бромкарбобензокси- (I; X = Br) [461], *п*-хлоркарбобензокси- (I; X = Cl) [514], а также карбофенокси- (C_6H_5—OCO—) [514] и карбо-*п*-толилокси- (*п*-$CH_3C_6H_4$—OCO—) [514] производных; поскольку в случае *п*-нитрокарбобензоксипроизводных эта реакция протекает с одновременным восстановлением нитрогруппы в аминогруппу, то здесь одним из продуктов реакции является *п*-толуидин (II; X=NH_2), а не *п*-нитротолуол (II; X=NO_2) [462]. Каталитический гидрогенолиз может быть использован также для отщепления карбоаллилокси- (CH_2=$CHCH_2$—OCO—) [460] и тритильной [$(C_6H_5)_3C$—] [548] групп. В случае карбоаллилоксигруппы метод гидрогенолиза имеет ряд недостатков, поскольку при этом происходит одновременное гидрирование аллильного остатка до устойчивого к гидрогенолизу пропильного остатка, что, естественно, понижает выход выделяемого продукта реакции [460, 514]. С другой стороны, редуктивное отщепление тритильной группы в виде трифенилметана [$(C_6H_5)_3CH$] протекает количественно, однако скорость такой деградации значительно ниже, чем у соответствующих карбобензоксипроизводных [548, 843].

Если бензильная группа связана с остатком аминокислоты простой эфирной связью (например, в О-бензилсерине [504, 828, 829, 984] и О-бензилтирозине [830]), сложноэфирной связью, как в случае сложных бензиловых эфиров [602, 705], или же непосредственно с аминогруппой (в N^{α}-бензиламинокислотах [551, 552, 555, 565]), то гидрогенолиз приводит к появлению свободной гидроксильной (V → VI), карбоксильной (VII → VIII) или аминогруппы (IX → X) соответственно. В то время как *п*-нитробензильная

группа, соединенная тиоэфирной связью с сульфгидрильной функцией остатка цистеина (XI; X = NO_2), отщепляется сравнительно легко, в случае аналогичного производного с незамещенной бензильной группой (XI; X = H)



в тех же условиях не наблюдается заметного расщепления [512]. Наконец, следует отметить, что катализируемый палладием гидрогенолиз позволяет удалить нитрогруппу с остатка нитроаргинина (XIII) в конечной стадии синтеза пептидов аргинина; по-видимому, эта реакция протекает с первоначальным образованием промежуточного производного гидразина (XIV), которое, в свою очередь, претерпевает дальнейшую деградацию с образованием производного аргинина (XV) и одной молекулы аммиака (XVI) [492].



Экспериментальные условия. Отщепление карбобензокси-, *п*-нитрокарбобензокси-, *п*-бромкарбобензокси-, *п*-хлоркарбобензокси-, карбофенилокси- и карбо-*п*-толилоксигрупп, соединенных с атомом кислорода или азота, может быть осуществлено каталитическим гидрогенолизом при комнатной температуре и атмосферном давлении. В каждом из этих случаев реакция протекает с поглощением 1 моля водорода и выделением 1 моля двуокиси углерода на 1 моль ацильного заместителя (за исключением *п*-нитрокарбобензоксигруппы, в случае которой требуется поглощение еще 2 молей водорода для восстановления нитрогруппы в аминогруппу). В качестве катализатора до сих пор наиболее успешно использовалась палладиевая чернь, хотя удовлетворительные результаты были получены и при применении окиси палладия, а также 5—20% палладия на угле. Высокоактивная палладиевая чернь может быть получена путем восстановления раствора хлористого палладия муравьиной кислотой согласно приводимой ниже методике 157; поскольку активный катализатор является пирофорным и в высушенном состоянии инактивируется, его целесообразно хранить под водой. Хотя препарат 10% палладия на угле в настоящее время имеется в продаже, его активность, по данным автора, значительно колеблется от партии к партии, ввиду чего применять этот катализатор обычно не рекомендуется. С другой стороны, в последнее время получены удовлетворительные результаты при использовании вместо палладиевой черни окиси палладия; последнюю легко получить путем температурно-контролируемого сплавления хлористого палладия с нитратом натрия (методика 158). Однако независимо от типа применяемого катализатора, гидрогенолиз может проводиться или в специальной аппаратуре, или в аппаратуре, легко собираемой из обычного оборудования химической лаборатории. Вследствие крайней чувствительности палладиевого катализатора к отравлению следами серы предпочтительна полностью стек-

лянная аппаратура, хотя, вообще говоря, могут быть использованы резиновые пробки и шланги, если последние предварительно десульфуризованы путем обработки 10—20%-ной щелочью в течение недели с последующей многократной промывкой дистиллированной водой до нейтральной реакции на лакмус. Аппаратура, которая с успехом была использована в лаборатории автора, изображена на рис. 27 (см. методику 159). Во всяком случае, при использовании любой аппаратуры следует обеспечить возможность пропускания через систему тока чистого водорода и удобного определения двуокиси углерода, выделяющейся в процессе гидрогенолиза.

Типичная методика 157 [986]. Палладиевая чернь. Пластинку металлического палладия (12 *г*) нарезают тонкими полосками длиной 1—1,5 *см* и помещают в колбу Кьельдаля емкостью 500 *мл*, содержащую 50 *мл* «царской водки» (1 часть концентрированной азотной кислоты на 3 части концентрированной соляной кислоты). Смесь оставляют при комнатной температуре на 10—15 *мин* и после этого нагревают на паровой бане сначала осторожно, а затем более энергично, до полного растворения металла. Раствор выпаривают досуха на парафиновой бане при 130—140°, остаток обрабатывают 30 *мл* концентрированной соляной кислоты и смесь вновь выпаривают досуха. Обработку соляной кислотой и выпаривание повторяют еще дважды, остаток растворяют в 60—100 *мл* 5 н. соляной кислоты и раствор фильтруют в колбу Флоренса емкостью 5 *л*, содержащую 1200 *мл* нагретой до 90° воды. К горячему раствору *при интенсивном и непрерывном перемешивании* медленно добавляют 3,6 *мл* муравьиной кислоты и затем при энергичном встряхивании прибавляют порциями 5 н. раствор едкого кали до щелочной реакции на лакмус (около 200 *мл*). После этого добавляют по каплям муравьиную кислоту до слабощелочной реакции (по лакмусу), смесь охлаждают проточной водой, зернистый осадок палладиевой черни отделяют декантацией и 8—9 раз промывают дистиллированной водой. Катализатор, готовый к употреблению, хранят под слоем дистиллированной воды в плотно закрытом сосуде; *ни в коем случае не следует высушивать катализатор досуха*. Поскольку катализатор легко отравляется следами серы, необходимо избегать его контакта с серусодержащими материалами (резиновыми пробками, шлангами и т. п.), а также с некоторыми газами, иногда присутствующими в лабораторном воздухе, например с сероводородом.

Типичная методика 158 [987]. Окись палладия (катализатор). В фарфоровой чашке емкостью 150 *мл* тщательно смешивают 50 *г* химически чистого нитрата натрия и раствор хлористого палладия (содержащий 2 *г* палладия), смесь выпаривают досуха и затем нагревают до плавления. Смесь плавится при 270—280° и, когда температура достигает 350—370°, наблюдается интенсивное выделение окислов азота, сопровождающееся значительным вспениванием. Когда выделение газов закончится (на это требуется 3—5 *мин*), температуру быстро повышают и поддерживают в интервале 575—600° в течение 5 *мин*. Поскольку резкое повышение температуры может сопровождаться интенсивным выделением газов, рекомендуется нагревать смесь на одной горелке Меккера. Затем расплав охлаждают, растворяют в 200 *мл* дистиллированной воды и окись палладия отфильтровывают. Вследствие того что окись палладия в чистой воде может легко давать коллоидные растворы, катализатор не следует промывать водой; ввиду этого его тщательно промывают 1%-ным раствором нитрата натрия и высушивают в вакуум-эксикаторе над серной кислотой. В целом, включая фильтрование и промывку, для приготовления катализатора требуется около 45 *мин*.

Если все операции выполнены правильно, фильтрат от окиси палладия должен быть прозрачным и бесцветным. Нитрат и хлорид палладия в концентрированных растворах дают темно-коричневую окраску, которая при разбавлении становится слабо-желтой, и эта окраска может быть использована как показатель полноты осаждения. Если же фильтрат обнаруживает желто-оранжевую опалесценцию, то, следовательно, некоторая часть окиси палладия перешла в коллоидное состояние. Для регенерирования палладия из фильтрата последний можно или выпарить досуха и затем переплавить, или путем добавления карбоната натрия довести до слабощелочной реакции и осадить палладий путем нагревания с формальдегидом. Небольшие количества окиси палладия, как правило, прилипающие к фарфоровой чашке в процессе сплавления и не удаляемые обычными способами, могут быть легко растворены в кипящей бромистоводородной кислоте

Практически каталитическое восстановление соответствующих N-ацилированных пептидов обычно проводят в безводных или водных растворах метанола, этанола, ледяной уксусной кислоты или в других подходящих растворителях; кроме того, эту реакцию ускоряет добавление нескольких капель ледяной уксусной кислоты. Типичные приемы, используемые при превращении N-карбобензоксипептидов в соответствующие свободные пептиды, описаны в методике 159; эта методика, естественно, применима для гидрогенолиза производных, содержащих *п*-нитро-, *п*-хлор- и *п*-бромкарбобензокси-, а также карбофенилокси- и карбо-*п*-толилоксигруппы. Как указано в методике, для снятия карбобензоксигруппы требуется около 2 *час*, хотя это время может изменяться весьма значительно в зависимости от активности и количества применяемого катализатора, температуры, давления и ряда других факторов. Во всяком случае, конец реакции может быть легко определен по прекращению выделения углекислого газа. Поскольку реакция протекает количественно с образованием летучих побочных продуктов (толуола и двуокиси углерода), то последующее упаривание растворителя в вакууме сразу приводит к достаточно чистому пептиду. Следует учитывать, что приводимая здесь методика гидрогенолиза имеет ряд других модификаций (см., например, методику 160).

Типичная методика 159. Каталитический гидрогенолиз карбобензоксипептидов. В реакционную колбу (рис. 27) помещают суспензию, содержащую около 1 *г* палладиевого катализатора (методика 157) и катализатор несколько раз промывают метанолом путем декантации. Затем в колбу добавляют раствор 0,02 моля соответствующего карбобензоксипептида в метаноле, содержащий 4—5 капель ледяной уксусной кислоты. Нижний конец газоприводной трубки регулируют таким образом, чтобы он находился чуть выше поверхности раствора. С целью предосторожности против возможного взрыва смеси кислорода с водородом необходимо внимательно следить за тем, чтобы катализатор не оставался на стенках колбы и не находился выше поверхности раствора. Убедившись в герметичности всех узлов прибора, через систему в течение 5 *мин* пропускают умеренный ток водорода (*без перемешивания реакционной смеси*) для вытеснения атмосферного кислорода; скорость пропускания газа контролируют путем использования газопромывной склянки с дистиллированной водой (выходящие газы должны отводиться наружу через противовзрывной чехол или в открытое окно, причем следует устранить возможность их контакта с голым пламенем или искрой). После этого реакционную смесь начинают перемешивать магнитной мешалкой, и выходящие газы периодически контролируют на наличие в них двуокиси

углерода путем пропускания через насыщенный раствор гидроокиси бария; образование белого осадка карбоната бария свидетельствует о начале реакции. Такой контроль проводят каждые 30 *мин* до окончания гидрогенолиза, что определяют по прекращению выделения углекислого газа. Если в процессе гидрогенолиза выпадает осадок свободного пептида, необходимо добавить воду до полного растворения осадка. После окончания реакции катализатор отфильтровывают, промывают небольшим количеством воды и объединенные фильтрат и промывные воды концентрируют в вакууме при 40°.

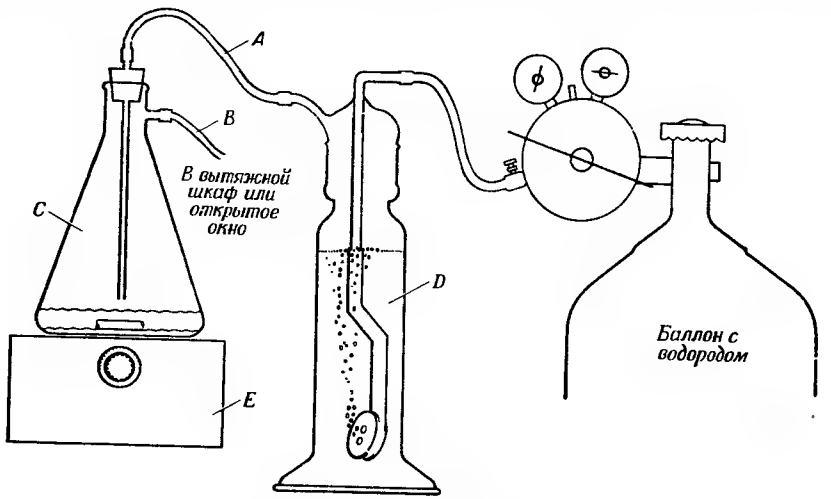
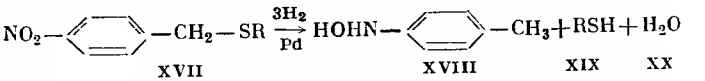


Рис. 27. Аппарат для каталитического гидрирования.
A — трубка для ввода водорода; *B* — трубка для отвода газов; *C* — реакционная колба; *D* — газопромывная склянка; *E* — магнитная мешалка.

Полученный пептид перекристаллизовывают из водного спирта или из другого подходящего растворителя.

Типичная методика 160 [610]. α-L-Глутамил-L-валин. Раствор 0,7 *г* карбобензокси-α-L-глутамил-L-валина (см. методику 150) в водном метаноле каталитически гидрируют в условиях методики 159. Полученный пептид, выпадающий в процессе восстановления, после окончания гидрогенолиза отфильтровывают вместе с катализатором, твердое вещество экстрагируют кипящей водой и продукт реакции высаживают из водного раствора этанолом; блестящие пластинки, выход 0,45 *г*. Перекристаллизацию проводят из водного этанола; $[\alpha]_D^{15}$ + 24,5° (2,7% в воде, содержащей 1 эквивалент соляной кислоты).

Приложение описанной выше схемы гидрогенолиза к метиловым и этиловым эфирам, а также амидам соответствующих N^{α}-ацилированных пептидов требует добавления к реакционной смеси по меньшей мере 1 эквивалента кислоты (обычно соляной или уксусной) на 1 молярный эквивалент образующейся аминогруппы. Получающиеся эфиры пептидов (методика 161) или амиды пептидов (методика 162) выделяют затем в виде соответствующих хлоргидратов или ацетатов, хотя обычно рекомендуется использовать ацетаты вследствие их большей склонности к кристаллизации [916]. Однако если каталитическому гидрогенолизу подвергаются бензиловые эфиры пептидов, то реакция протекает с одновременным отщеплением N-ацильного и С-бензильного остатков и образованием свободного пептида (методика 163); как правило, используют 0,5 *г* палладиевого катализатора на 0,01 моля восстанавливаемой группы. Поскольку отщепление бензильной группы сложных бензиловых эфиров не сопровождается выделением газообразной двуокиси углерода, в этом случае представляется целесообразным использовать аппаратуру для гидрирования, позволяющую контролировать ход реакции по количеству поглощенного водорода или же примерно вдвое увеличить время гидрогенолиза, необходимое для полного удаления карбобензоксигруппы. То же самое имеет место при отщеплении бензильной группы, соединенной простой эфирной связью с гидроксильной функцией остатка серина или треонина, а также в случае бензильной группы, связанной непосредственно с атомом азота аминогруппы, и *п*-нитробензильной группы, соединенной тиоэфирной связью с сульфгидрильной функцией. В первых двух случаях расходуется 1 моль водорода на моль отщепляемой бензильной группы, в то время как для редуктивного отщепления S-*п*-нитробензильного остатка требуется 3 моля водорода по следующей реакции [512]:



Поскольку восстановительное отщепление нитрогруппы в случае производных нитроаргинина (методика 164) и тритильной группы в случае производных N-тритиламинокислот происходит значительно медленнее, чем отщепление О- или N-бензильной группы, то в первом случае для гидрогенолиза обычно требуется несколько больший период времени.

Типичная методика 161 [928]. Ацетат этилового эфира глицил-L-тирозина. К раствору 2 *г* этилового эфира карбобензоксиглицил-L-тирозина (методика 80) в 25 *мл* абсолютного метанола добавляют 1,2 молярного эквивалента ледяной уксусной кислоты, и смесь каталитически гидрируют в условиях методики 159. После окончания восстановления смесь фильтруют, катализатор промывают небольшим количеством метанола и объединенные фильтрат и промывные воды выпаривают в вакууме досуха при температуре не выше 40°. Остаток обрабатывают эфиром и кристаллический продукт реакции отфильтровывают: выход 1,5 *г*; $[\alpha]_D^{29}$ + 16,2° (2% в воде).

Типичная методика 162 [916]. Ацетат глицил-L-тирозинамида. Раствор 1,85 *г* карбобензоксиглицил-L-тирозинамида (методика 147) и 0,3 *мл* ледяной уксусной кислоты в 25 *мл* метанола каталитически гидрируют в условиях методики 159. После завершения реакции катализатор отфильтровывают, фильтрат концентрируют в вакууме при температуре не выше 40° и получают 1,4 *г* кристаллического продукта, который перекристаллизовывают из смеси метанола с этилацетатом; $[\alpha]_D^{22}$ + 28,0° (10% в воде).

Типичная методика 163 [904]. Дипикролонат L-аргинил-L-аргинина. Суспензию 4,78 *г* бензилового эфира N^{α}, N^{ω}, N^{ω},-трикарбобензокси-L-аргинил-N^{ω}-карбобензокси-L-аргинина (методика 120) в 150 *мл* метанола, содержащего 2—3 *мл* уксусной кислоты, каталитически гидрируют согласно методике 159. Реакционную смесь фильтруют, катализатор несколько раз промывают 5%-ной уксусной кислотой, и объединенные фильтрат и промывные воды снова фильтруют. Фильтрат разбавляют водой до объема 300 *мл*; каждый миллилитр полученного раствора содержит приблизительно 5,5 *мг* аргиниларгинина. Аликвотную часть этого раствора (200 *мл*) концентрируют

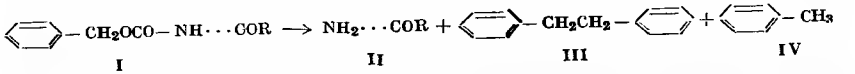
в вакууме до густого сиропа при температуре не выше 40°, добавляют небольшое количество воды, смесь снова упаривают и эту операцию повторяют еще раз. К раствору оставшегося сиропа в 50 *мл* воды добавляют 500 *мл* насыщенного раствора пикролоновой кислоты (полученного путем перемешивания 5,5 *г* перекристаллизованной из горячего этанола пикролоновой кислоты в 500 *мл* воды при комнатной температуре в течение ночи и отфильтровывания нерастворившегося вещества). Почти немедленно выпадает ярко-желтый осадок дипикролоната; смесь оставляют в темноте на 12 *час*, осадок отфильтровывают, промывают холодной водой до получения бесцветного фильтрата и высушивают на воздухе в темноте; выход 2,25 *г* (79%), $[\alpha]_D^{25}$ + 5,5° (1% в диметилформамиде).

Типичная методика 164 [845]. L-Аргинил-L-глутаминовая кислота. К смеси 40 *мл* метанола, 10 *мл* ледяной уксусной кислоты и 5 *мл* воды добавляют 1,99 *г* дибензилового эфира карбобензоксинитро-L-аргинил-L-глутаминовой кислоты (методика 116), и реакционную смесь каталитически гидрируют в течение 10 *час* в условиях методики 159. Затем катализатор отфильтровывают и фильтрат концентрируют в вакууме досуха при температуре ниже 40°. Остаток обрабатывают абсолютным этанолом, фильтруют и затем кристаллизуют из 50%-ного этанола. Продукт реакции представляет собой тетрагидрат; выход 0,99 *г* (88%), $[\alpha]_D^{21}$ + 20,9° (2% в воде).

Область применения и ограничения. Карбобензоксигруппа со времени ее введения Бергманом и Зервасом [128] в 1932 г. использовалась в качестве N-защитной группы для синтеза гораздо большего числа пептидов и их производных, чем все другие защитные группы, вместе взятые. Выдающееся место, занимаемое этой группой в синтетической пептидной химии, обусловлено главным образом легкостью ее отщепления каталитическим гидрогенолизом в очень мягких условиях, исключающих возможность разрыва крайне лабильных пептидных связей или рацемизации оптически активных компонентов; кроме того, в этом случае единственными конечными продуктами восстановления являются соответствующий пептид (или его производное) и летучие побочные продукты, не загрязненные неорганическими солями, столь характерными для пептидных препаратов, полученных ранними методами. Поскольку гидрогенолиз протекает количественно, выход желаемого продукта реакции, как правило, колеблется в пределах 80—90% теории или является еще более высоким. Другое достоинство этого метода заключается в том, что гидрогенолиз метиловых или этиловых эфиров карбобензоксипептидов ведет к соответствующим свободным эфирам пептидов и поэтому позволяет легко получать такие промежуточные соединения, которые могут быть использованы для удлинения пептидной цепи. Поскольку применение в подобной реакции бензиловых эфиров карбобензоксипептидов приводит к одновременному отщеплению N-карбобензокси- и эфирной бензильной групп, то в случае синтезов, направленных на получение свободного пептида, отпадает необходимость в стадии омыления. И действительно, вследствие высоких выходов продуктов реакции, а также доступности бензиловых эфиров аминокислот (раздел 23) часто данный путь синтеза оказывается наиболее предпочтительным. Хотя в последние годы появилась тенденция к преимущественному использованию других N-ацильных групп, близких карбобензоксигруппе (*п*-нитро-, *п*-хлор- или *п*-бромкарбобензокси-, карбоаллилокси-, карбофенилокси- и карбо-*п*-толилоксигруппы), все же благодаря многолетнему опыту использования карбобензоксигруппы, она в большинстве случаев практически незаменима.

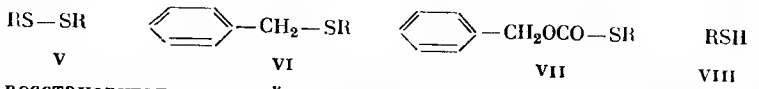
Хотя карбобензоксигруппа сыграла неоценимую роль в создании методов, позволяющих легко получать неизвестные или весьма труднодоступные ранее пептиды, тем не менее все прежние попытки использовать ее для синтеза цистинсодержащих пептидов оказывались безуспешными. Так, в 1934 г. Уайт [861] сообщил о попытке декарбобензоксилирования *бис*-карбобензоксицистинил-*бис*-глицина путем восстановления водородом в присутствии платиновой или палладиевой черни. Несмотря на то, что цистин может быть восстановлен до цистеина путем катализируемого палладием гидрогенолиза [988], в настоящее время обычно считают, что эффективность палладиевого или платинового катализатора значительно снижается в присутствии серы. Тем не менее каталитическое гидрирование может быть использовано для количественного отщепления карбобензоксигруппы в производных пептидов, содержащих остаток метионина, что было показано Деккером, Тейлором и Фрутоном [627]; правда, в этом случае для полного завершения гидрогенолиза необходимы длительное время и периодическое добавление свежего катализатора в процессе восстановления. В случае же карбобензоксипроизводных, содержащих дисульфидную связь, как в цистине, тиоэфирную связь (в S-бензилцистеине) или сульфгидрильную функцию, как в цистеине, успешного использования аналогичных приемов не описано. Однако, как было показано Берсе, Буше и Пишом [512], при замене в таких соединениях карбобензоксигруппы на *п*-нитрокарбобензоксигруппу путем гидрогенолиза удается легко отщепить N-ацильный заместитель; этот факт связан, по-видимому, со значительной лабилизацией соответствующей N-ацильной связи в результате сильного индуктивного эффекта нитрогруппы. Так, гидрирование водного раствора натриевой соли *бис*-(*п*-нитрокарбобензокси)-L-цистина или соответствующих цистиновых пептидов в присутствии палладиевой черни при комнатной температуре и атмосферном давлении приводит к соответствующим производным цистина или цистеина в зависимости от того, останавливается ли реакция после поглощения 6 или 7 молей водорода; в каждом из этих случаев побочным продуктом реакции является *п*-толилгидроксиламин (n-CH_3—C_6H_4—NHOH). При использовании же в качестве растворителя этанола происходит поглощение только 4 молей водорода и из реакционной смеси осаждается цистин или соответствующий цистиновый пептид. Интересно, что большая чувствительность к гидрогенолизу, проявляемая *п*-нитрокарбобензоксигруппой в сравнении с карбобензоксигруппой, не является характерной для других аналогичных защитных групп, скорости расщепления которых следуют в таком порядке: карбобензокси-> *п*-хлоркарбобензокси-> карбофенилокси-> карбо-*п*-толилокси- [514].

45. Химическое восстановление. *Принцип.* Редуктивное действие металлического натрия в жидком аммиаке на карбобензоксипептиды (I; R=OH) или их амиды (I; R=NH_2) приводит к отщеплению N-ацильного заместителя и образованию нужного производного пептида (II) [690]; расщепление карбобензоксигруппы сопровождается образованием дибензила (III) наряду с небольшими количествами толуола (IV) [690, 989].



Аналогичным образом может быть осуществлено восстановительное отщепление O- или N-тозильной [446, 842], N-карбоаллилокси- [460] и N-бензилсульфонильной [601] групп; кроме того, отщепление последней группы можно осуществить действием никеля Ренея в 80%-ном этаноле в присутствии щелочи [601]. Приложение метода восстановления натрием в жидком

аммиаке к производным, содержащим дисульфидную связь (V) [690, 862, 867], тиобензильную связь (VI) [11, 690, 862] или S-карбобензоксигруппу (VII) [365] (соответственно в цистине, S-бензилцистеине или S-карбобензоксицистеине) приводит в каждом случае к появлению свободной сульфгидрильной функции (VIII).



При восстановительном действии натрия в жидком аммиаке происходит также легкое отщепление бензильной группы, связанной с имидазольным ядром (в 1-бензилгистидине) [842].

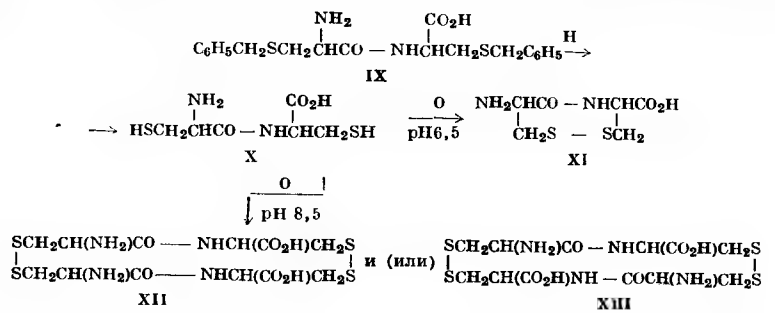
Экспериментальные условия. Редуктивное отщепление N- или S-карбобензокси-, O- или N-тозильной, N-карбоаллилокси-, N-бензилсульфонильной, N- или S-бензильной групп, а также расщепление дисульфидной связи остатка цистина легко осуществляется путем обработки раствора соответствующего соединения в жидком аммиаке небольшими кусочками металлического натрия; хотя в этом отношении не существует никаких жестких правил, практически наиболее подходящей концентрацией является 0,01 моля реагента на 100—200 *мл* жидкого аммиака. Реакцию, как правило, проводят в сосуде Дьюара или в обычной трехгорлой круглодонной колбе с внешним охлаждением (или без него), но при интенсивном перемешивании реакционной смеси. Окончание реакции восстановления определяется по появлению устойчивой синей окраски, свидетельствующей о наличии избытка натрия. Разрушение избытка натрия, сопровождающееся исчезновением синей окраски, достигается путем добавления к реакционной смеси достаточного количества аммониевой соли, например хлорида аммония или ацетата аммония. Остаток после упаривания аммиака представляет собой смесь необходимого продукта реакции с большими количествами натриевых солей; в случае восстановления соединений, содержащих N-тозильную и, вероятно, также N-бензилсульфонильную группы в качестве побочных продуктов реакции образуются сульфит- и сульфат-ионы [890]. Здесь уместно отметить, что не существует никакого общего метода, позволяющего изолировать из такой реакционной смеси аминокислоты, пептиды и их амиды. Часто проблема выделения может быть решена путем использования некоторых специфических свойств продукта реакции, таких, как способность образовывать нерастворимые пикраты [842] или ртутные соли [11, 473], хотя общая применимость этих методов, по-видимому, ограничена. В большинстве случаев, однако, неорганические соли удаляются перед выделением продукта реакции. Для этой цели весьма перспективным представляется использование ионообменных смол [435, 890] и противоточного распределения (ср. с работой [82]), хотя может оказаться эффективным и применение более классических методов. Так, например, значительно большая растворимость в спирте подистого натрия в сравнении с обычными пептидами позволяет удалить из реакционной смеси ионы натрия после ее обработки иодистоводородной кислотой; с другой стороны, отделение сульфат- и хлорид-ионов может быть достигнуто осаждением соответственно ионами бария или серебра. Во всяком случае, ясно, что применяемые методы выделения продукта реакции могут меняться в зависимости от конкретных обстоятельств. Метод, оказавшийся удовлетворительным на ряде примеров, подробно приводится в методике 165; *поскольку жидкий аммиак обладает очень сильным разъедающим действием на кожу и глаза, необходимо всегда в качестве средства первой помощи иметь под рукой насыщенный раствор борной кислоты.*

Типичная методика 165 [890]. α-L-Глутамилглицин. В трехгорлую колбу, снабженную мешалкой и осушительной трубкой с гранулированным едким натром, помещают 3,58 *г* (0,01 моля) тозил-α-L-глутамилглицина (методики 143 и 154) и затем осторожно добавляют около 120 *мл* жидкого аммиака. К полученному раствору при интенсивном перемешивании постепенно добавляют небольшими кусочками (около 0,1 *г* каждый) металлический натрий до устойчивой темно-синей окраски (сохраняющейся в течение более 3 *мин*), что свидетельствует об окончании реакции; на это расходуется приблизительно 1,3—1,5 *г* (0,055—0,065 *г-атом*) натрия. Затем к раствору добавляют ацетат аммония до исчезновения синей окраски, и смесь непрерывно перемешивают до полного самопроизвольного испарения аммиака. Последние следы аммиака удаляют путем эвакуирования колбы на водоструйном насосе при температуре 40°. Сухой остаток растворяют в 20 *мл* ледяной воды и обрабатывают 10 *г* ионообменной смолы амберлит IRC-50 (в NH_4^+-форме). Через 30 *мин* смолу отфильтровывают, промывают водой, и объединенные фильтрат и промывные воды упаривают в вакууме при температуре не выше 40° до объема 15 *мл*. К оставшемуся раствору добавляют 1 *М* раствор ацетата бария (около 5—10 *мл*) до полного осаждения; осадок отфильтровывают, промывают холодной водой и объединенные фильтрат и промывные воды, в случае необходимости, снова упаривают в вакууме до объема 10—30 *мл*. Раствор наносят на колонку (размером 3×8 *см*), наполненную крупнозернистым ионообменником (амберлит IRC-50 в NH_4^+-форме); колонку промывают дистиллированной водой (скорость элюирования 20—30 капель в минуту) до тех пор, пока объем элюата не составит 150 *мл*. Элюат упаривают в вакууме при 40° до небольшого объема, добавляют избыток этанола и выделяют соответствующий пептид. Выход 1,4 *г* (68,5%); $[\alpha]_D^{21}$ +80° (2,2% в воде).

Для восстановительного отщепления N-тозильной группы вместо натрия может быть использован металлический литий, барий или кальций [890]. Однако выходы продукта реакции, получаемые при использовании указанных металлов, обычно ниже, чем в случае натрия.

Область применения и ограничения. Использование метода восстановления натрием в жидком аммиаке, предложенного Дю Виньо и сотрудниками [11, 690, 842, 862, 867] для отщепления N-карбобензокси-, N-тозильной и S-бензильной групп, а также для расщепления дисульфидной связи, принесло неоценимую пользу при синтезе пептидов, содержащих остаток цистеина или цистина. В каждом из этих случаев реакция протекает с образованием свободной сульфгидрильной группы и поэтому обычно весьма удобно изолировать соответствующий пептид путем его осаждения из реакционной смеси в виде нерастворимой ртутной соли (ср. с работами [11, 473, 990]). Разложение водной суспензии ртутной соли сероводородом и последующее удаление осадка сульфида ртути путем фильтрования приводят к получению раствора соответствующего цистеинового пептида, свободного от неорганических солей. Образовавшийся пептид выделяют или непосредственно в виде цистеинового производного, или после окисления к соответствующему цистиновому аналогу (путем аэрации водного раствора при pH от 7,5 до 8,5 до отрицательной реакции на сульфгидрильную группу с нитропруссидом натрия или хлористым железом). В этой связи можно добавить, что если в молекуле исходного пептида содержатся два или более остатков цистеина, то в этом случае имеется возможность внутримолекулярного или межмолекулярного образования дисульфидной связи, причем направление реакции зависит от pH среды и концентрации раствора. Так, например, восстановление S-бензил-L-ци-

стеинил-S-бензил-L-цистеина (IX) с помощью натрия в жидком аммиаке приводит к L-цистеинил-L-цистеину (X), который после аэрации в 0,15%-ном водном растворе при pH 6,5 путем внутримолекулярного образования дисульфидной связи легко превращается в циклический монопептид (XI), названный цикло-L-цистинилом (методика 166). Однако если pH среды равно 8,5 и концентрация составляет 0,6%, то путем создания межмолекулярных дисульфидных связей между двумя молекулами пептида образуются значительные количества димера, обладающего параллельной структурой (XII), антипараллельной структурой (XIII) или представляющего собой их смесь. Процесс окисления при pH 6,5 напоминает собой процесс внутримолекулярного образования дисульфида в последней стадии синтеза окситоцина, проведенного Дю Виньо и его сотрудниками [82]; возможно, что такое окисление при других значениях pH может вести к образованию полимерных веществ.



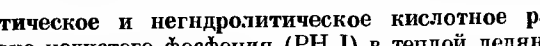
содержащих дисульфидные связи. Однако независимо от направления последующего окисления сульфгидрильной группы, редуктивное отщепление защитных групп при действии натрия в жидком аммиаке представляет собой метод, с помощью которого стали легко доступными пептиды, содержащие остатки цистина и цистеина.

Типичная методика 166 [473, 959]. *цикло*-L-Цистинил. К раствору 15 *г* S-бензил-L-цистеинил-S-бензил-L-цистеина (методика 170) в 500 *мл* жидкого аммиака небольшими кусочками добавляют 4,5 *г* металлического натрия. Затем синий раствор обесцвечивают путем добавления 13 *г* сульфата аммония и аммиак упаривают. Полученный твердый остаток растворяют в 450 *мл* холодной 0,7 н. серной кислоты и отфильтровывают небольшие количества нерастворившегося вещества. После этого при перемешивании добавляют 90 *мл* раствора сульфата ртути (приготовленного путем смешения 200 *г* сульфата ртути, 50 *мл* 10 н. серной кислоты, 40 *мл* концентрированной серной кислоты и 600 *мл* воды [990]); выпавший осадок отделяют центрифугированием и промывают водой, не содержащей кислорода. Разложение ртутного производного проводят путем обработки его водной суспензии сероводородом и полученный раствор после отфильтровывания сульфида ртути концентрируют в вакууме для удаления избытка сероводорода. Раствор, имеющий pH около 1,5, подщелачивают до pH 6,5 путем добавления гидроокиси бария, отфильтровывают на складчатом фильтре осадок сульфата бария, и прозрачный фильтрат разбавляют дистиллированной водой до объема 5,5 *л* (с одновременным контролем pH). Затем через раствор пропускают ток чистого воздуха до отрицательной цветной реакции на сульфгидрильную группу с нитропруссидом натрия или хлористым железом (около 4—12 *час*). Раствор подкисляют до pH 5 серной кислотой, отфильтровывают осадок сульфата

бария, фильтрат упаривают до небольшого объема в вакууме при возможно низкой температуре и кристаллы отфильтровывают. Перекристаллизацию проводят путем растворения твердого вещества в большом объеме теплой воды, отфильтровывания нерастворимых примесей и повторного упаривания до небольшого объема; выход 72%, $[\alpha]_D^{25}$ —29,3° (1% в 1 н. соляной кислоте).

Хотя восстановительное действие натрия в жидком аммиаке может быть использовано для удаления некоторых защитных групп с пептидов и их амидов, использование в этой реакции эфиров соответствующих пептидов оказывается невозможным вследствие того, что в условиях данной реакции сложные эфиры претерпевают по крайне мере, частичный, аммонолиз. Процесс восстановления, как правило, не сопровождается рацемизацией при наличии оптически активных компонентов; правда, исключение составляет пример, описанный Бреннером и Пфистером [490], которые при отщеплении этим методом карбобензоксигруппы от карбобензокси-L-метионил-L-метионил-L-метионина получили оптически неактивный трипептид. Вследствие того, что метод восстановления натрием в жидком аммиаке всегда связан с образованием больших количеств неорганических солей и проблема очистки продуктов реакции является здесь весьма сложной, этот метод удаления защитных групп обычно не рекомендуется при возможности использования других методов, например каталитического гидрогенолиза (раздел 44). Естественно, это не следует понимать таким образом, что данный метод применим лишь для синтеза пептидов и их производных, содержащих остаток цистина или цистеина. Так, например, в сравнительно недавних работах, посвященных применению тозилпироглутаминовой кислоты для синтеза α- и γ-глутаминовых пептидов (раздел 39), подчеркивается важная роль метода восстановления натрием в жидком аммиаке для селективного отщепления тозильной группы. В таких случаях для удаления неорганических солей обычно необходимо использование ионообменных смол, противоточного распределения, фракционной кристаллизации и классических методов неорганической химии.

46. Гидролитическое и негидролитическое кислотное расщепление. *Принцип.* Действие иодистого фосфония (PH_4I) в теплой ледяной уксусной кислоте на N-карбобензоксипептиды (I; R = $C_6H_5CH_2$, R′=OH), соответствующие амиды (I; R′=NH_2) или метиловые, этиловые и бензиловые эфиры (I; R′ = OCH_3, OC_2H_5 или $OCH_2C_6H_5$) приводит к легкому отщеплению N-ацильного заместителя с образованием иодистого бензила (III; R=$C_6H_5CH_2$, X=I), двуокиси углерода (IV) и иодгидрата неацилированного пептида, его амида или эфира (V) [10, 474]. Негидролитическое расщепление связано,



по-видимому, с каталитическим действием иодистоводородной кислоты (II, X=I), которая образуется при взаимодействии иодистого фосфония с ледяной уксусной кислотой. Аналогичное отщепление N-карбобензоксигруппы может быть осуществлено несколько более гладко при комнатной температуре путем действия иодистоводородной кислоты [991], бромистого водорода [514, 664, 665, 722] или хлористого водорода [664] в ледяной уксусной кислоте, хотя могут быть использованы и другие органические растворители, такие, как диоксан [664], нитрометан [900], четыреххлористый углерод [755], диэтилфосфит [465] и этанол [637, 664]. При использовании в качестве растворителя этанола реакция сопровождается этерификацией незащищенной карбоксильной группы [637, 664]. К другим защитным группам, отщепляемым вышеуказанными реагентами, относятся N-карбоаллилокси- [460, 514],

N-*n*-хлоркарбобензокси- [514], N-карбо-*трет*-бутилокси- [464, 465], N-карбоциклопентилокси- [464], N-карбоциклогексилокси- [464], O-карбобензокси- [369, 379, 822] и O-бензильная [828] группы. Хотя для отщепления N-тозильной группы требуются несколько более жесткие условия, тем не менее ее отщепление может быть осуществлено действием смеси иодистого фосфония с концентрированной иодистоводородной кислотой при 50—65° [127].

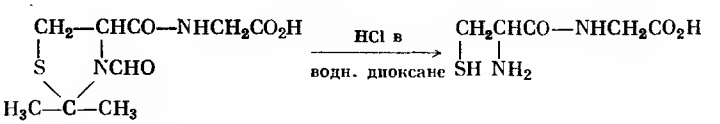
N-Тозильная группа отщепляется также при действии бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте в присутствии фенола; на это требуется продолжительный период времени при комнатной температуре [992] или 2—4 *час* при 65—70° [366]. Показано также, что тозильная группа не отщепляется при обработке метанольным раствором хлористого водорода в течение нескольких часов при комнатной температуре и даже при 100° [514]. В этом отношении резко отлично поведение N-формильной группы, которая является весьма устойчивой к действию растворов галогеноводородов в ледяной уксусной кислоте в течение нескольких дней при 20° [514] и очень легко отщепляется спиртовыми или водными растворами хлористого водорода в условиях, не ведущих к расщеплению лабильной пептидной связи [514, 584, 586, 993]. С другой стороны, N-тритильная группа легко отщепляется в виде трифенилкарбинола [$(C_6H_5)_3COH$] при кратковременном нагревании в разбавленной уксусной кислоте или при обработке одним или более эквивалентами хлористого водорода в воде или органических растворителях при комнатной температуре [545—549, 673]. Селективное гидролитическое отщепление N-карбобензоксигруппы может быть осуществлено действием теплой концентрированной соляной кислоты [718, 861].

Экспериментальные условия. Обработка N-карбобензоксипептидов, их амидов или эфиров концентрированным раствором бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте (15—60 *мин*, комнатная температура) обычно приводит к почти количественному отщеплению N-ацильной группы (методика 167); N-карбо-*трет*-бутоксигруппа отщепляется в тех же условиях со значительно большей скоростью, чем N-карбобензоксигруппа [464, 465], тогда как скорости отщепления N-карбоаллилокси- [514], N-*n*-хлоркарбобензокси- [514], N-карбоциклопентилокси- [464] и N-карбоциклогексилоксигрупп [464] значительно ниже. Окончание реакции определяется по прекращению выделения углекислого газа. Поскольку наличие влаги может вести к гидролитическому расщеплению некоторых менее экранированных пептидных связей [900], необходимо использовать совершенно сухие реагенты и проводить реакцию в безводных условиях. Для получения безводной ледяной уксусной кислоты продажный реактив обычно вымораживают в бане со льдом, отделяют водный слой и оставшуюся твердую массу расплавляют в атмосфере, защищенной от влаги воздуха хлоркальциевой трубкой. Выделение бромгидратов соответствующих пептидов, их амидов и эфиров проводят, как правило, путем их осаждения из реакционной смеси добавлением сухого эфира. Превращение бромгидратов пептидов в свободные пептиды можно осуществить обработкой этанольного или метанольного раствора соли аммиаком, пиридином, анилином, гидратом окиси лития или другим подходящим основанием. Хотя ледяная уксусная кислота является одним из наиболее подходящих растворителей для этой реакции, вместо нее можно использовать целый ряд других инертных безводных сред; однако для этой цели нельзя использовать безводный этанол, поскольку в этом случае реакция сопровождается этерификацией и, кроме того, вследствие несмешиваемости безводного эфира с этанольным раствором бромистого водорода становится невозможным прямое осаждение продукта реакции [664].

Типичная методика 167. Декарбобензоксилирование бромистым водородом в ледяной уксусной кислоте. К 0,01 моля N-карбобензоксипептида (его амида или эфира) добавляют 10 *г* насыщенного раствора бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте и реакционную колбу защищают от влаги воздуха хлоркальциевой трубкой. Вскоре после добавления реагента начинается выделение двуокиси углерода. После прекращения выделения газа (примерно через 15—60 *мин*) добавляют 100 *мл* сухого эфира для осаждения образующегося бромгидрата амина. Смесь оставляют на несколько часов на холоду, отфильтровывают выпавший бромгидрат и несколько раз промывают его безводным эфиром. Бромгидраты амидов пептидов или эфиров пептидов выделяют в том виде, в каком они получены, в то время как бромгидраты незамещенных пептидов обычно переводят в свободные пептиды путем осаждения из метанола, этанола или другого подходящего растворителя при обработке основаниями, такими, как анилин, гидроокись аммония, гидроокись лития или пиридин.

Хотя отщепление соответствующих N-карбалкоксигрупп действием иодистого фосфония в ледяной уксусной кислоте или действием хлористого, иодистого или бромистого водорода в безводных органических растворителях в принципе аналогично, все же в силу ряда свойств системы бромистый водород — уксусная кислота ее использование обычно более целесообразно. Так, например, в то время как отщепление N-карбобензоксигруппы бромистым водородом в ледяной уксусной кислоте легко протекает за несколько минут при комнатной температуре, в случае иодистого фосфония необходима повышенная температура, а аналогичная реакция, катализируемая хлористым водородом, требует большего времени или еще более высокой температуры [664]. С другой стороны, раствор иодистого водорода в ледяной уксусной кислоте является менее стабильным. Во всяком случае бромгидраты, получаемые в качестве конечных продуктов реакции, не только легче кристаллизуются и менее гигроскопичны, чем соответствующие хлоргидраты, но являются также менее чувствительными к свету, чем иодгидраты [722].

Деформилирование путем кислотного гидролиза или алкоголиза протекает со скоростью, зависящей в каждом случае от природы соответствующего аминокислотного остатка [584]. Так, например, «период полураспада» метиловых эфиров формилвалина, формиллейцина и формилглицина в 1-молярном растворе хлористого водорода в метаноле составляет от 40 до 60 *мин*. На практике снятие N-формильной группы осуществляют путем обработки соответствующего пептида небольшим избытком хлористого водорода в метиловом, этиловом или бензиловом спирте (при использовании соответствующих сложных эфиров), или в водном диоксане (в случае свободной кислоты) в течение 16—48 *час* при комнатной температуре или за более короткий период времени при повышенной температуре [514, 584, 586, 993]. Эта реакция оказывается особенно важной в связи с недавним введением L-4-карбокси-3-формил-2,2-диметилтиазолидина как промежуточного соединения в синтезе цистеинсодержащих пептидов (см. раздел 39). В данном случае это связано с возможностью одновременного отщепления формильной и изопропилиденовой групп от L-N-(3-формил-2, 2-диметилтиазолидин-4-карбокси)-глицина(VI)



VI VII

при мягком кислотном сольволизе с образованием L-цистеинилглицина (VII). Подробное описание этого синтеза приведено в методике 168.

Типичная методика 168 [874]. L-Цистеинилглицин (моногидрат). Метиловый эфир L-N-(3-формил-2,2-диметилтиазолидин-4-карбокси)-глицина (методика 129) омыляют путем обработки раствора 4,16 *г* (16 *ммолей*) этого соединения в 42 *мл* диоксана 16 *мл* 1 н. раствора едкого натра; реакционную смесь выдерживают при комнатной температуре в течение 50 *мин*, добавляют к ней еще 1,2 *мл* 1 н. раствора едкого натра и через 15 *мин* раствор подкисляют эквивалентным количеством 1 н. соляной кислоты. Растворитель упаривают в вакууме, бесцветный остаток растирают с этилацетатом (2×20 *мл*), затем с водой (2×6 *мл*), высушивают и перекристаллизовывают из смеси метанола с четыреххлористым углеродом; выход 3,36 *г* (87%), т. пл. 152—153,5°, $[\alpha]_D^{26} = -169°$ (2% в воде). Раствор 3,2 *г* (13 *ммолей*) L-N-(3-формил-2,2-диметилтиазолидин-4-карбокси)-глицина в 50 *мл* смеси диоксана с водой (1 : 1), содержащей 14 *мл* 1 н. соляной кислоты, кипятят 2 *час* в атмосфере азота. Смесь охлаждают, нейтрализуют в атмосфере азота эквивалентным количеством 1 н. раствора гидроокиси лития и немедленно высушивают досуха с использованием лиофильной сушки. Остаток тщательно промывают этилацетатом, затем этанолом и высушивают в вакууме. Перекристаллизацию проводят в атмосфере азота из смеси метанола с водой (1 : 1), не содержащей кислорода; выход 1,4 *г* (55%), $[\alpha]_D^{26}$ +46,1° (2,9% в воде).

Кислотное отщепление тритильной группы, связанной с атомом азота, происходит с большей скоростью, чем в случае упомянутых ранее N-ацильных групп. Такая поразительная чувствительность к действию кислот видна из того факта, что количественное отщепление N-тритильной группы не обязательно требует каталитического действия минеральных кислот, но может легко протекать даже при слабом нагревании в присутствии водной уксусной кислоты. Практически детритилирование удобно проводить или путем нагревания соответствующего производного в 50%-ной уксусной кислоте (1 *ммоль* на 1 *мл*) на кипящей водяной бане в течение 1—2 *мин* (методика 169), или путем обработки суспензии данного производного в спирте или ацетоне 1 экв. соляной кислоты с последующим кипячением в течение 1 *мин* или выдерживанием в течение нескольких минут при комнатной температуре [545—549, 673]. Хотя S-тритильная группа, по-видимому, является устойчивой к действию теплой водной уксусной кислоты, тем не менее N- и S-тритильные группы легко отщепляются хлористым водородом в хлороформном растворе [549].

Типичная методика 169 [548]. Глицилглицин. Суспензию 0,005 моля тритилглицилглицина (методика 152) в 5 *мл* 50%-ной уксусной кислоты нагревают в течение 1—2 *мин* на кипящей водяной бане, причем при этом происходит растворение исходного соединения и осаждение трифенилкарбинола. Добавляют воду, трифенилкарбинол отфильтровывают и фильтрат выпаривают в вакууме досуха. После обработки остатка этанолом и последующего фильтрования с выходом 94% получают нужный дипептид.

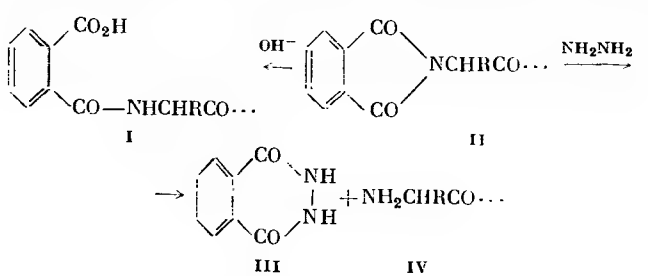
Область применения и ограничения. Насыщенный раствор бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте является превосходным реагентом для отщепления карбобензоксигруппы и родственных групп соответствующих пептидов не только вследствие простоты связанных с этим экспериментальных операций, но и вследствие того, что конечные продукты реакции обычно получаются с удовлетворительным выходом и имеют высокую степень химической

и стереохимической чистоты. Условия этого метода достаточно мягкие и позволяют не затрагивать такие лабильные производные, как этиловые и метиловые сложные эфиры, амиды и тиоловые сложные эфиры. Хотя сложные бензиловые эфиры подвергаются ацидолизу при действии бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте (на это требуется продолжительный период времени при комнатной температуре или более короткий период времени при повышенной температуре), эта реакция не происходит в заметной степени в условиях, обычно используемых для снятия карбобензоксигруппы. Действительно, в силу значительного различия в скоростях расщепления N-карбобензоксигруппы и сложных бензиловых эфиров, указанным методом, исходя из соответствующих N-ацильных производных, могут быть легко получены бензиловые эфиры аминокислот (методика 53) и пептидов [664, 665]. Таким образом, на основе этого метода становятся легко доступными промежуточные соединения, непосредственно используемые в пептидном синтезе. Другое достоинство метода удаления защитных групп с помощью бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте связано со способностью этого реагента селективно отщеплять карбобензоксигруппу в случае таких производных, которые содержат не стойкие к гидрогенолизу заместители (например, нитрогруппу или S-бензильную группу) (методика 170). Напротив, крайняя лабильность индольного ядра триптофана к воздействию минеральных кислот и ярко выраженная склонность метионина к превращению в S-бензилцистеин путем замещения S-метильной группы на S-бензильную (при атаке бензильным карбкатионом) делают невозможным удовлетворительное использование бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте в случае N-карбобензоксипроизводных, содержащих остатки указанных аминокислот [900; ср. с работой 993а]. Побочные реакции этого типа играют меньшую роль в случае легко расщепляемых N-карбо-*трет*-бутоксипроизводных [464]; интересно, что в противоположность карбобензоксигруппе карбо-*трет*-бутоксигруппа устойчива к каталитическому гидрогенолизу и действию натрия в жидком аммиаке и поэтому является особенно ценной для синтеза сложных пептидов, в случае которых необходима целая комбинация селективно удаляемых защитных групп [465]. Некоторые преимущества использования бромистого водорода в сравнении с хлористым или иодистым водородом, а также иодистым фосфонием были отмечены ранее и нет смысла обсуждать их здесь еще раз. Следует отметить, однако, что катализируемое кислотами отщепление защитных групп в присутствии воды [718, 861] или спирта [637] может сопровождаться заметным разрывом пептидных связей [514, 900] и поэтому этот метод не может быть рекомендован как общий.

Типичная методика 170 [473]. S-Бензил-L-цистеинил-S-бензил-L-цистеин. К 1,77 *л* насыщенного раствора сухого бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте добавляют 350 *г* карбобензокси-S-бензил-L-цистеинил-S-бензил-L-цистеина (методика 151). Смесь оставляют при 25° на 1 *час* (с периодическим встряхиванием) и затем разбавляют большим количеством сухого эфира. Выпавший бромгидрат дипептида отфильтровывают, промывают сухим эфиром и растворяют в разбавленной бромистоводородной кислоте. К полученному раствору добавляют разбавленный раствор аммиака до pH 6 и выпавший свободный дипептид отфильтровывают. Продукт реакции очищают путем его растворения в 20 *л* 30%-ного этанола при осторожном добавлении к суспензии разбавленного раствора аммиака и последующего осаждения (при перемешивании) разбавленной соляной кислотой до pH 6; операцию очистки проводят еще один раз. Конечный выход составляет 213 *г*; т. пл. 170—172° (исправленная), $[\alpha]_D^{26}$ −141,1° (2% в 1 н. растворе едкого натра).

В противоположность N-тритильной, N-формильной, N-карбобензокси- и другим родственным защитным группам N-тозильная группа является весьма устойчивой к действию спиртовых растворов хлористого водорода даже при кипячении [514, 993]. Однако эта группа весьма чувствительна к ацидолизу под действием бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте [366, 992], хотя скорость ее отщепления значительно ниже, чем в случае соответствующих карбобензоксипроизводных. Несмотря на то, что скорость отщепления тозильной группы значительно возрастает с повышением температуры, это не имеет большого практического значения, поскольку одновременно возрастает тенденция к расщеплению пептидных связей [514]. Аналогичная проблема возникает и при использовании иодистого фосфония в ледяной уксусной кислоте, причем в этих условиях ацидолиз N-тозильной группы при 50° протекает очень медленно, в то время как при 100° отщепление проходит чрезвычайно быстро; этот факт связан не только с возрастанием скорости ацидолиза, но также и с восстановительным действием реагента при повышенной температуре [514]. С другой стороны, отщепление N-тозильной группы при действии теплой смеси иодистого фосфония с концентрированной иодистоводородной кислотой представляет собой преимущественно восстановительный процесс [127]. Во всяком случае, необходимость жестких условий реакции обычно делает нежелательным использование иодистого фосфония для снятия N-тозильной группы с пептидов и их производных.

47. Щелочной гидролиз и гидразинолиз. *Принцип.* Обработка соответствующего N-фталилированного пептида или его амида (II) гидразином в кипящем этаноле [518, 965] или в водном растворе карбоната натрия при комнатной температуре [527] приводит к отщеплению ацильной группы с одновременным образованием фталилгидразида (III) и нужного пептида или его амида (IV). Аналогичное дефталилирование может быть осуществлено также действием фенилгидразина [994] или N-метилгидразина [995] вместо гидразина, хотя в этих случаях необходимо добавление третичного основания, например трибутиламина, играющего роль катализатора. Однако действие щелочи на фталильное производное (II) приводит к разрыву пятичленного цикла с образованием производного фталамовой кислоты (I), которое не реагирует далее с гидразином в нужном направлении. Высокая чувствительность к действию щелочи может быть продемонстрирована также на примере N-трифторацетильных производных, которые претерпевают легкое деацилирование в присутствии разбавленных водных или спиртовых растворов щелочи или аммиака [567—569, 573].



Экспериментальные условия. На практике дефталилирование соответствующего производного наиболее удобно проводить путем кипячения его раствора в этаноле с 1—2 эквивалентами гидразина в течение 1—2 *час* (методика 171). Поскольку образующийся в процессе реакции фталилгидразид по своей природе является кислотой, то последующее упаривание реакционной смеси приводит к выделению соли фталилгидразида с соответствующим амином; разложение этой соли разбавленной уксусной кислотой или соляной кислотой приводит к практически полному осаждению малорастворимого фталилгидразида, а при упаривании фильтрата выделяют нужный амин [518, 965]. Другой метод заключается в кипячении этанольного раствора N-фталилпептида с 1,5—2 эквивалентами фенилгидразина и 1 эквивалентом три-*н*-бутиламина в течение 2 *час* [994]. Последующая обработка реакционной смеси полуторакратным объемом метилэтилкетона и 1 эквивалентом ледяной уксусной кислоты приводит к осаждению кристаллического пептида, в то время как растворимый N-фенилфталилгидразид остается в растворе. Дефталилирование можно провести и в менее жестких условиях путем обработки соответствующего производного в водном растворе карбоната натрия 1 эквивалентом гидразина в течение 2 *суток* при комнатной температуре (методика 172); нейтрализация реакционной смеси соляной кислотой приводит к осаждению фталилгидразида, в то время как пептид и хлористый натрий остаются в растворе. Поскольку разделение этих двух веществ может оказаться весьма затруднительным, то обычно рекомендуется использовать для нейтрализации иодистоводородную кислоту; преимущество этого состоит в относительно большей растворимости иодистого натрия в холодном спирте, в котором свободный пептид растворим лишь умеренно, в результате чего возникает возможность удаления неорганических веществ [527].

Типичная методика 171 [518]. Глицилглицин. Суспензию 2,62 *г* (0,01 моля) фталилглицилглицина (методика 65) в 30 *мл* этанола обрабатывают 10 *мл* 1 *М* раствора гидразингидрата в спирте и смесь кипятят 1 *час*. Затем смесь выпаривают досуха, остаток нагревают в течение 10 *мин* при 50° с 25 *мл* приблизительно 2 н. соляной кислоты, и смесь в течение 30 *мин* постепенно охлаждают до комнатной температуры. Отфильтровывают фталилгидразид и после концентрирования фильтрата в вакууме получают хлоргидрат глицилглицина в виде моногидрата. Продукт реакции перекристаллизовывают из этанола, затем растворяют в 100 *мл* воды и путем пропускания через колонку с амберлитом IR-4B (анионит) переводят в свободный дипептид. Концентрирование не содержащего галогенов элюата до объема 20 *мл* с последующим добавлением к нему этанола приводит к выделению 1,07 *г* (87%) глицилглицина.

Типичная методика 172 [527]. L-Глутамин. К раствору 1,35 *г* карбоната натрия в 25 *мл* воды добавляют 5,4 *г* фталил-L-глутамина (методика 135) и 2 *г* 50%-ного гидразингидрата, и реакционную смесь оставляют на 2 *суток* при комнатной температуре. Затем раствор нейтрализуют 2 н. соляной кислотой, отфильтровывают осадок фталилгидразида и фильтрат освобождают от ионов хлора путем встряхивания в течение нескольких часов с 7,5 *г* карбоната серебра. После фильтрования смеси получают прозрачный раствор, который точно нейтрализуют 2 н. иодистоводородной кислотой и концентрируют в вакууме при 30°. При добавлении к остатку спирта выпадает L-глутамин; выход около 67%. Его перекристаллизовывают путем добавления к водному раствору этанола (до помутнения) с последующим выдерживанием на холоду в течение нескольких часов; $[\alpha]_D^{22}$ + 5,6° (в воде).

Гидролитическое расщепление амидной связи между трифторацетильной группой и атомом азота легко происходит при комнатной температуре и при pH выше 10 [567—569, 573]. Скорость щелочного гидролиза N-трифтораце-

тиламинокислот в значительной степени зависит от природы аминокислотного остатка. Так, например, в то время как степень гидролиза N-трифторацетилглицина за 38 *мин* в 40%-ном водном этаноле (при pH 12,0—12,1 и комнатной температуре) составляет 45%, степень расщепления N-трифторацетил-DL-фенилаланина в тех же самых условиях составляет лишь 5% [569]. Следовательно, условия, при которых происходит количественное деацилирование N-трифторацетилпептидов, по-видимому, могут быть различными в зависимости от природы данного соединения. Практически, соответствующее производное пептида оставляют в водном или спиртовом растворе щелочи (методика 173) или аммиака (методика 174) при комнатной температуре до тех пор, пока не достигнуто количественное деацилирование. Время реакции может колебаться в пределах от нескольких минут до нескольких дней, в зависимости от строения исходного соединения и условий опыта; ограниченность известных в настоящее время данных, к сожалению, не позволяет вывести какие-либо более определенные закономерности в этой области.

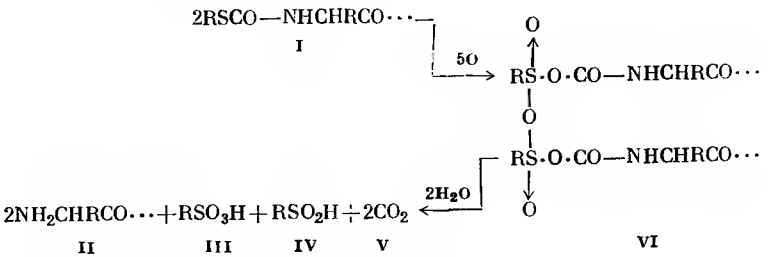
Типичная методика 173 [569]. Анилид L-фенилаланина. К раствору 91,1 *мг* анилида N-трифторацетил-L-фенилаланина (методика 66) в 5 *мл* 95%-ного этанола добавляют 1 *мл* 1 н. раствора едкого натра. Щелочной раствор оставляют на 48 *час* при комнатной температуре и затем подкисляют 1 н. соляной кислотой. Смесь выпаривают досуха, твердый остаток промывают 2 *мл* разбавленного водного раствора аммиака и продукт реакции перекристаллизовывают из 4 *мл* 50%-ного водного этанола; выход 37 *мг* (57%), т. пл. 73—74°, $[\alpha]_D^{26}$ + 22,1° (1,0%, в этаноле).

Типичная методика 174 [573]. Глицилглицин. Раствор 0,42 *г* дициклогексиламиновой соли трифторацетилглицилглицина (методика 69) в 10 *мл* 12%-ного раствора гидроокиси аммония оставляют на 30 *мин* при комнатной температуре и затем отделившийся дициклогексиламин экстрагируют петролейным эфиром. Водный слой выпаривают в вакууме досуха, к остатку добавляют небольшое количество воды и смесь снова выпаривают досуха. Остаток обрабатывают 5 *мл* этанола и кристаллический продукт реакции отфильтровывают; выход 116 *мг* (85%).

Область применения и ограничения. Селективное удаление фталильной группы путем гидразинолиза было использовано для получения лишь нескольких ди- и трипептидов, содержащих ряд простых аминокислот; до настоящего времени не имеется никаких данных в отношении производных серина, треонина, оксипролина, гистидина, лизина, аргинина или триптофана. То, что опыты по дефталилированию оказываются не всегда успешными даже в случае простых пептидов, может быть продемонстрировано, например, неудачной попыткой удалить защитную группу с фталилглицилглицил-L-аспарагина путем его обработки гидразином [674]. Необходимо отметить здесь и другие недостатки, связанные с использованием фталильной группы. Так, в случае эфиров фталилпептидов не может быть использовано низкотемпературное омыление сложноэфирной группы, поскольку такая обработка ведет к раскрытию фталильного цикла с одновременным образованием соответствующих производных фталамовой кислоты, которые, в свою очередь, не претерпевают деацилирования при действии гидразина. Хотя в этих случаях может быть использован кислотный гидролиз сложноэфирной группы, его условия являются достаточно жесткими и могут также привести к заметному гидролизу более лабильных амидных и пептидных связей [674]. Более того, поскольку при действии гидразина сложный эфир превращается в гидразид, то свободные эфиры пептидов не могут быть получены путем деацилирования соответствующих фталильных производных.

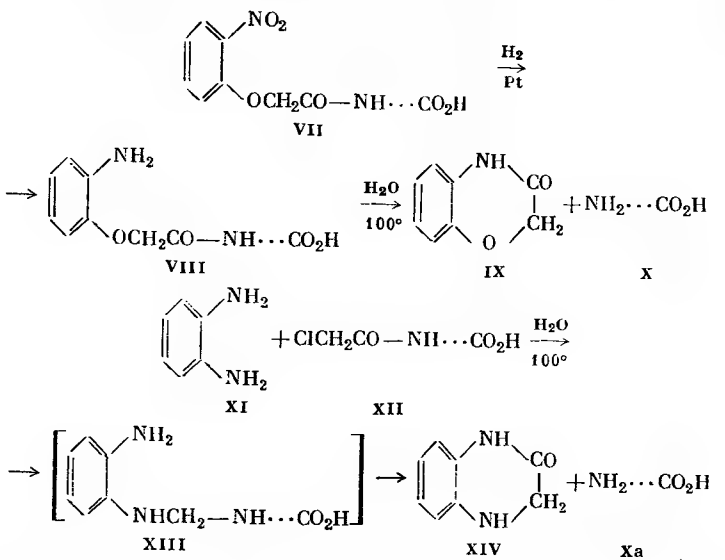
Поскольку до настоящего времени трифторацетильная группа широко не использовалась в синтезе пептидов, точная оценка ее практической значимости пока еще невозможна.

48. Специальные методы расщепления. а) Окисление. Селективное отщепление N-бензил-, N-фенил- и N-метилтиокарбонильных групп может быть осуществлено путем обработки соответствующего N-ацилированного пептида или его эфира (I; $R = C_6H_5CH_2$, C_6H_5 и CH_3 соответственно) 2,5 молями пербензойной кислоты в течение 1 *час* при 0° в смеси уксусной кислоты с бензолом, бензола с тетрагидрофураном или в диоксане, лучше всего в присутствии примерно 2% воды [580]. Окисление протекает преимущественно через промежуточное образование соединений типа VI, которые под влиянием воды претерпевают разложение с выделением двуокиси углерода и образованием свободного пептида и его эфира (II). Выделение свободных пептидов из реакционной смеси удается провести с высоким выходом путем абсорбции на катионите дауэкс-50 с последующим элюированием разбавленным раствором аммиака; в случае эфиров пептидов перед выделением проводят омыление сложноэфирной группы. В отличие от карбобензоксигруппы, бензилтиокарбонильная группа является устойчивой к действию бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте.



б) Внутримолекулярный аминолиз. Предпочтительное удаление N-*о*-нитрофеноксиацетильной и N-хлорацетильной групп с соответствующих пептидных производных (VII и XII) основано на их превращении в N-*о*-аминофеноксиацетильное (VIII) и N-*о*-аминофенилглициновое (XIII) производные соответственно; последние претерпевают легкую внутримолекулярную циклизацию с образованием в первом случае лактама *о*-аминофеноксиуксусной кислоты (IX), а во втором — лактама *о*-аминофенилглицина (XIV) и одновременным отщеплением в обоих случаях свободного пептида (X и Xa) [494]. Так, гидрирование N-*о*-нитрофеноксиацетилпептида (VII) в присутствии платинового катализатора приводит к N-*о*-аминофеноксиацетильному производному (VIII), при кипячении которого в воде (100°) в течение 1 *час* и последующем охлаждении выпадает осадок лактама *о*-аминофеноксиуксусной кислоты (IX), а при упаривании раствора удается выделить соответствующий свободный пептид (X). При нагревании N-хлорацетильного производного (XII) в водном растворе с 2 молями дихлоргидрата *о*-фенилендиамина (XI) и 5 молями гидроокиси лития в течение 1 *час* при 100° и последующем охлаждении реакционной массы осаждается лактам *о*-аминофенилглицина, который отфильтровывают и из фильтрата выделяют свободный пептид (Xa); по-видимому, реакция протекает с промежуточным образованием N-о-

аминофенилглицина (XIII)



49. Подход к определению оптической чистоты пептидов. Оптическая чистота пептида связана с оптической чистотой составляющих его аминокислот, причем если последние не являются оптически чистыми, то в действительности имеется не один пептид, а смесь двух или более диастереомеров. В разделе 25 было особо подчеркнуто, что аминокислоты должны обладать высокой степенью оптической чистоты перед их использованием в пептидном синтезе. Если, однако, метод синтеза сам по себе ведет к некоторой рацемизации одного и более аминокислотных остатков в пептиде (ср. разделы 28 и 29), то требование оптической чистоты исходных аминокислот не является обязательным. С другой стороны ясно, что если исходные аминокислоты не обладают достаточной степенью оптической чистоты, то в случае получения оптически неоднородного пептида весьма трудно определить, связано ли это с условиями используемого метода, или с нечистотой исходных веществ. Если предположить, что исходные аминокислоты являются оптически чистыми, то, следовательно, определение оптической чистоты аминокислот в синтетическом пептиде может дать ответ на вопрос о наличии рацемизации в ходе пептидного синтеза. С этой целью необходимо гидролизовать пептид до составляющих его аминокислот и затем определить их оптическую чистоту. Очевидно, что метод гидролиза сам по себе не должен вести к рацемизации, в то время как метод определения оптической чистоты аминокислот должен включать в себя такие агенты, которые являются а) абсолютно оптически специфичными, б) высокочувствительными и в) совершенно не подавляемыми в присутствии большого избытка антиподной аминокислоты.

Для гидролиза пептидов не рекомендуется использовать кипячение с крепкой кислотой в течение нескольких дней [996], поскольку в этих условиях имеет место заметная рацемизация. Использование критерия оптического вращения для определения оптической чистоты не приводит к надежному результату, поскольку это связано с допускаемой точностью измерения и необходимостью иметь гарантированный стандарт для сравнения.

С другой стороны, использование микробиологических методов для определения количества L-формы в возможной смеси L- и D-аминокислот также не всегда приводит к успеху вследствие несовершенства способов измерения, большой величины ошибки и возможности ингибирования микробиологической реакции в присутствии инертных D-изомеров. Так, для определения L-валина в присутствии D-валина был использован микроорганизм *L. arabinosus* [996], хотя уже было известно, что рост этого организма подавляется D-валином [997]. Смесь изомеров, состоящую, например, из 95% L-аминокислоты и 5% D-аминокислоты, гораздо точнее анализировать методом, основанным на определении 5% D-изомера, чем методом, по которому предполагается количественная оценка 95% L-изомера при условии, что остальные 5% являются D-изомером.

Как показано в работах автора, наиболее простым и в то же время наиболее чувствительным методом определения оптической чистоты является метод, основанный на использовании в качестве гидролитического агента почечной аминопептидазы с последующим определением продуктов гидролиза с помощью L-аминооксидазы (из змеиного яда) или D-аминооксидазы (из почек) [254]. Как и в случае любых других энзиматических процессов, этот метод ограничен необходимостью иметь весьма чувствительные субстраты; другими словами, те пептиды, оптическая чистота которых определяется, должны гидролизоваться аминопептидазой легко и полностью, в то время как антиподные формы продуктов гидролиза должны быть чувствительными к действию оксидаз (ср. с гл. 6). Так, например, попытки определить этим методом оптическую чистоту глицил-D-пролина, даже если бы этот субстрат легко расщеплялся аминопептидазой, не привели бы к положительному результату, поскольку в продуктах гидролиза нельзя определить возможного присутствия L-пролина ввиду индеферентности последнего к L-аминооксидазе (из змеиного яда).

Другое ограничение указанного метода связано с природой анализируемого пептида, который должен быть оптически однородным, т. е. содержать в себе чувствительные к ферментам аминокислотные остатки или L-, или D-конфигурации, но не обеих конфигураций одновременно. Так, исследуемый пептид может быть L-лейцил-L-лейцином, D-лейцил-D-лейцином или L-лейцилглицил-L-лейцином и т. п., но не L-лейцил-D-лейцином или D-лейцил-L-лейцином и т. п. Эти оптически неоднородные дипептиды могут легко и полностью гидролизоваться аминопептидазой: однако а) если один из аминокислотных остатков претерпевает рацемизацию в большей степени, чем другой, то это может быть обнаружено лишь по повышению расхода кислорода при действии одной оксидазы и понижению расхода кислорода при действии другой оксидазы (поскольку это повышение или понижение представляет собой относительно небольшую разность между двумя большими числами, то при этом возможна значительная ошибка), и б) если оба аминокислотных остатка частично рацемизуются в равной мере, то, очевидно, этот факт вообще невозможно обнаружить при использовании оксидаз. Поэтому пептиды, исследуемые этим методом, должны быть оптически однородными; однако, даже если в пептидазном гидролизате L-лейцил-L-лейцина обнаруживается некоторое количество D-лейцина, то невозможно определить, связано ли это с рацемизацией N-концевого аминокислотного остатка, или C-концевого остатка, или их обоих. Следовательно, еще одно ограничение указанного метода при приложении его к пептидам заключается в том, что последние должны быть однородными не только оптически, но и химически. В некоторых единичных случаях это ограничение может быть снято путем использования структурно и оптически специфических энзимов, таких, как L-тирозиндекарбоксилаза.

Например, гидролизат D-лейцил-D-тирозина должен содержать D-лейцин и D-тирозин; присутствующие в гидролизате L-лейцин или L-тирозин суммарно могут быть легко обнаружены L-аминооксидазой. Однако последующее использование L-тирозиндекарбоксилазы (на другой аликвотной части гидролизата) позволяет определить исключительно L-тирозин, если последний присутствует в гидролизате. Очевидно, что данный метод применим лишь к пептидам, содержащим такие аминокислоты, антиподы которых специфически чувствительны к некоторым декарбоксилазам аминокислот.

Первое приложение этого общего метода было связано с определением оптической чистоты ряда глицил-L- и D-аминокислот, полученных классическим методом Фишера; было найдено, что эти пептиды полностью гидролизуются аминопептидазой (из почек) и после гидролиза совершенно инертны к действию соответствующих оксидаз, специфических для оптических антиподов [254]. Естественно, что глицин оказался инертным и к L-, и к D-аминооксидазам. Сравнительно недавно в лаборатории автора Пейк методом смешанных ангидридов (раздел 29) с использованием изобутилхлорформиата получил следующие пептиды: L-лейцил-L-лейцин, D-лейцил-D-лейцин, L-валил-L-валин и D-валил-D-валин. Эти соединения были аналитически и хроматографически чистыми, причем энантиоморфные формы имели равное по величине и противоположное по знаку оптическое вращение. Оптическая чистота изомеров валина и лейцина, использованных в пептидном синтезе, была определена ранее и оказалась выше 99,9% (гл. 6). Как следовало из результатов анализа с использованием бумажной хроматографии, а также из отрицательных результатов, полученных при анализе по методу Ван-Слайка (определение CO_2 после обработки нингидрином), в конечных препаратах пептидов не содержалось свободных аминокислот. Были приготовлены смеси, состоящие из 10 *мкмолей* пептида, аминопептидазы (из почек) и L- или D-аминооксидазы, содержащие (и не содержащие) 1 *мкмоль* L- или D-аминокислоты, и проводился анализ потребления кислорода до прекращения реакции. Поскольку препараты аминопептидазы перед их использованием обладали достаточно высокой каталазной активностью, каталазу в реакционную смесь не добавляли. В этих условиях на 1 *мкмоль* окисляемой аминокислоты расходовалось 11,2 *мкл* кислорода. Следует отметить, что в препарате D-аминооксидазы также была обнаружена некоторая аминопептидазная активность. После окончания поглощения кислорода аликвотная часть реакционной смеси подвергалась анализу по методу Ван-Слайка для определения полноты гидролиза пептида.

Результаты этого исследования заслуживают внимания [998]. Один из трех препаратов L-лейцил-L-лейцина (четырежды перекристаллизованного из воды) дал гидролизат, который не давал реакции с D-аминооксидазой, но потреблял 10,5 *мкл* кислорода при добавлении 1 *мкмоля* D-лейцина и 21,9 *мкл* кислорода при добавлении 1 *мкмоля* D-лейцил-D-лейцина; следовательно, этот препарат можно рассматривать как оптически чистый (выше 99%). Из двух других препаратов L-лейцил-L-лейцина (перекристаллизованных только один раз) первый дает гидролизат, потребляющий сам по себе 10,3 *мкл* кислорода, а в присутствии 1 *мкмоля* D-лейцина — 20,3 *мкл* кислорода, в то время как гидролизат второго препарата потребляет 41,3 *мкл* кислорода, а при добавлении 1 *мкмоля* D-лейцина — 51,8 *мкл* кислорода. Отсюда следует, что первый из этих двух препаратов L-лейцил-L-лейцина рацемизован в такой степени, что в гидролизате содержится 1% D-лейцина, в то время как в гидролизате второго препарата содержится 4% D-лейцина и, следовательно, ни один из этих препаратов не может рассматриваться как оптически чистый (если стандартом оптической чистоты считать чистоту выше

99%). Поскольку все три препарата L-лейцил-L-лейцина были получены из одного и того же образца L-лейцина, то можно сделать вывод, что некоторая рацемизация происходит в ходе пептидного синтеза, и, по всей вероятности, на стадии конденсации. Оценить степень рацемизации, которая может меняться от препарата к препарату, трудно, поскольку при кристаллизации пептида из воды происходит фракционирование смеси диастереоизомеров.

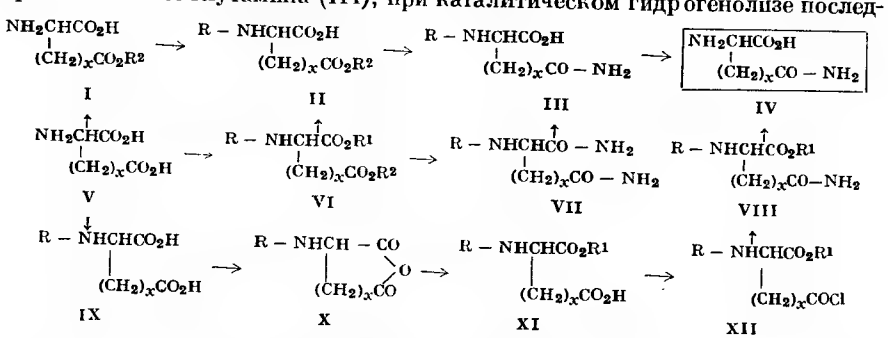
Тем же самым способом, что и описанный выше, была определена оптическая чистота препарата L-лейцил-L-валина (перекристаллизованного четыре раза из воды); его гидролизат потребляет 12,9 *мкл* кислорода в присутствии 1 *мкмоля* D-валина и, следовательно, содержание D-валина в пептиде составляет менее 1%. Другими словами, данный пептид в пределах существующей точности определения может рассматриваться как оптически чистый. Аналогичным образом была проверена оптическая чистота препарата D-лейцил-D-лейцина (четырежды перекристаллизованного из воды), за исключением того, что вместо D-аминооксидазы из почек была использована L-аминооксидаза *Bothrops atrox*. Этот препарат после обработки аминопептидазой дает гидролизат, который потребляет 8,8 *мкл* кислорода в присутствии 1 *мкмоля* L-лейцина и 25,8 *мкл* кислорода в присутствии 1 моля оптически чистого L-лейцина; следовательно, данный препарат можно считать оптически чистым (>99%).

Типичная методика 175 [998]. Стандартная методика для проверки оптической чистоты чувствительных к ферменту пептидов — следующая. В обычную колбу Варбурга помещают смесь, состоящую из 2 *мл* воды (содержащей 100 *мкмолей* анализируемого пептида), 0,1 *мл* воды или водного раствора, содержащего 1 *мкмоль* L- или D-аминокислоты, или L-L- или D-D-пептида, 2 *мл* 0,1 *М* боратного буфера с pH 8,05 и 0,4 *мл* суспензии аминопептидазы из почек. Около 0,5 *мл* водного раствора D-аминооксидазы (из яда *Bothrops atrox* или из почек свиньи) помещают в боковой отвод колбы, а в центральную чашку добавляют 0,2 *мл* 20%-ного раствора едкого кали. Смесь термостатируют при температуре 37°, из бокового отвода добавляют оксидазу и регистрируют потребление кислорода до полного окончания процесса. После этого реакцию прекращают, отбирают 0,5 *мл* смеси и подвергают ее анализу в монометрической аппаратуре, измеряя количество двуокиси углерода, выделившейся после обработки нингидрином. В этих условиях на 1 *мкмоль* аминокислоты расходуется 11,2 *мкл* кислорода, в то время как в случае полного гидролиза 100 *мкмолей* дипептида должно выделиться около 200 *мкмолей* двуокиси углерода.

Получение некоторых производных аминокислот

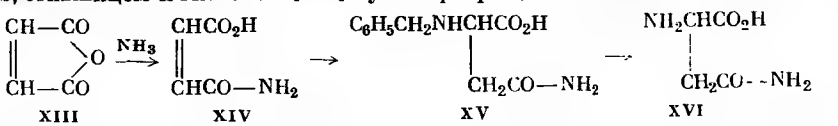
50. Глутамин и аспарагин. Хотя аспарагин и глутамин, обычно классифицируемые как α-аминокислоты, получаются в промышленном масштабе путем выделения из растительного сырья, их прямой синтез проводят главным образом путем использования методов пептидной химии. Первый такой синтез был осуществлен в 1933 г. Бергманом, Зервасом и Зальцманом [602], которые получили L-глутамин (IV; $x = 2$; $[\alpha]_D^{19} + 8{,}0°$ в воде) путем гидрогенолиза бензилового эфира карбобензокси-L-глутамина (VIII; $R = C_6H_5CH_2OCO$, $R^1 = C_6H_5CH_2$). Это соединение в свою очередь было получено следующим путем: при взаимодействии ангидрида карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (X) (методика 132) с бензиловым спиртом при 100° образовался α-бензиловый эфир карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (XI), хлорангидрид которого (XII) путем реакции с аммиаком

был превращен в бензиловый эфир карбобензокси-L-глутамина. L-Аспарагин (IV; $x = 1$; $[\alpha]_D^{22}$ +20,6° в эквимолекулярном количестве 0,1 н. HCl) синтезирован теми же авторами исходя из ангидрида карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты (X; R = $C_6H_5CH_2OCO$) с использованием аналогичной последовательности реакций. Видоизменение первоначальной методики получения глутамина было двумя годами позже описано Харингтоном и Мидом [10], которые впервые провели омыление бензилового эфира карбобензокси-L-глутамина (VIII), полученного Бергманом, Зервасом и Зальцманом, и затем удалили ацильную группу с образовавшегося карбобензокси-L-глутамина (III) путем обработки иодистым фосфонием в ледяной уксусной кислоте. Как было показано в том же году Нинбургом [999], карбобензокси-L-глутамин можно наиболее просто получать путем аммонолиза γ-этилового эфира карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (II; $R^2 = C_2H_5$), образующегося при карбобензоксилировании γ-этил-L-глутамата (I); каталитический гидрогенолиз (III) приводит к L-глутамину (IV; $[\alpha]_D$ + 8,3° в воде). В другом, модифицированном методе Миллера и Уэлша [482] для аммонолиза используется концентрированный водный раствор аммиака. О новом пути получения карбобензокси-L-глутамина (III) сообщил Фрутон [1000]; его метод основан на использовании специфичности протеолитического энзима папаина, с помощью которого возможно селективное гидролитическое расщепление амидных связей, включающих α-карбоксильную группу N-ацилированной L-глутаминовой кислоты с одновременным сохранением γ-амидных связей. Так, аммонолиз диметилового эфира карбобензокси-L-глутаминовой кислоты (VI; R = $C_6H_5CH_2OCO$, $R^1 = R^2 = CH_3$) приводит к соответствующему диамиду (VII; т. пл. 194—196°), который при инкубации с папаином, активированным цистеином, претерпевает расщепление α-амидной группы с образованием карбобензокси-L-глутамина (III); при каталитическом гидрогенолизе послед-



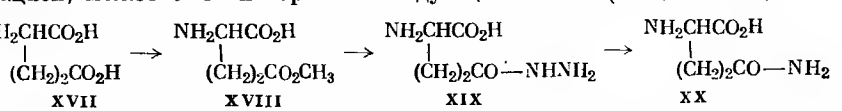
него получают L-глутамин (IV; $[\alpha]_D^{23}$ +6,0° в воде). Для получения глутамина и аспарагина, кроме карбобензоксипроизводных, могут быть также использованы промежуточные соединения, содержащие другие защитные группы. В этой связи ранее была обсуждена возможность (раздел 39) получения глутамина путем восстановления тозил-L-глутамина (методика 140) натрием в жидком аммиаке, а также гидразинолиза фталил-L-глутамина (методика 172). Как было показано Боварником [1001], DL-аспарагин (IV; $x = 1$) может быть получен восстановлением тозил-DL-аспарагина (III; R = n-$CH_3C_6H_4SO_2$) натрием в жидком аммиаке; тозил-DL-аспарагин был получен автором путем обработки ангидрида тозил-DL-аспарагиновой кислоты (X) бензиловым спиртом при 100°, фракционированием образовавшейся смеси α- и β-бензиловых эфиров и последующим аммонолизом β-бензилового эфира тозил-DL-аспарагиновой кислоты (II; $R^2 = C_6H_5CH_2$) при действии

водного раствора аммиака. DL-Аспарагин (XVI) был получен также Франкелем, Ливницем и Амьелем [556] путем превращения малеинового ангидри-



да (XIII) в малеамовую кислоту (XIV) при действии аммиака в диоксановом растворе, последующей обработки XIV 1 эквивалентом бензиламина (вначале в кипящем диоксане и затем в кипящем толуоле) и, наконец, каталитическим восстановлением (в присутствии палладия) полученного N-бензил-DL-аспарагина (XV). С другой стороны, L-аспарагин (IV; $x = 1$) был получен Вейгандом, Клинке и Эйгеном [576] путем одновременного деацилирования и омыления этилового эфира трифторацетил-L-аспарагина (VIII; R = CF_3CO, $R^1 = C_2H_5$) с использованием водного раствора гидроокиси бария при комнатной температуре; синтез VIII был осуществлен путем реакции ангидрида трифторацетил-L-аспарагиновой кислоты (X) с этанолом, превращения β-карбоксильной группы полученного α-этилового эфира (XI; R = C_2H_5) в соответствующий хлорангидрид (XII) и обработки последнего аммиаком. Метод получения L-глутамина (IV; $x = 2$, $[\alpha]_D$ +7° в воде), описанный Амьяром, Хеймсом и Веллюзом [675], заключается в аммонолизе γ-метилового эфира тритил-L-глутаминовой кислоты (II; R = $(C_6H_5)_3C$, $R^2 = CH_3$) при действии метанольного раствора аммиака с последующим детритилированием полученного тритил-L-глутамина (III) обработкой теплой 50%-ной уксусной кислотой; метиловый эфир (II) в свою очередь был получен селективной переэтерификацией дибензилового эфира тритил-L-глутаминовой кислоты (IV; $R^1 = R^2 = C_6H_5CH_2$) при действии метилата натрия в метаноле с последующим каталитическим гидрогенолизом α-бензилового γ-метилового диэфира тритил-L-глутаминовой кислоты (IV; $R^1 = C_6H_5CH_2$, $R^2 = CH_3$), приводящим к отщеплению сложноэфирной бензильной группы.

Один из наиболее простых и удобных методов получения L-глутамина (XX) описан Акабори и Нарита [1002]. Метод заключается в первоначальном превращении L-глутаминовой кислоты (XVII) в ее γ-метиловый эфир (XVIII), обработке последнего гидразином в абсолютном этаноле и, наконец, в восстановлении полученного γ-гидразида глутаминовой кислоты (XIX) с помощью никеля Ренея. Эта реакция, которая, по-видимому, не сопровождается рацемизацией, может быть изображена следующей схемой (методика 176):



Типичная методика 176 [1002]. L-Глутамин. К суспензии 14 *г* тонко измельченного γ-метил-L-глутамата (см. методики 50 и 51) в 40 *мл* абсолютного этанола добавляют 5 *г* гидразингидрата. Реакционную смесь быстро нагревают до полного растворения осадка и вскоре после этого начинает выпадать кристаллический γ-гидразид L-глутаминовой кислоты. После перекристаллизации из 50%-ного этанола выход продукта реакции составляет 90% теории; т. пл. 164°, $[\alpha]_D^{29}$ + 11,4° (5,4% в уксусной кислоте). К 10 *г* полученного γ-гидразида L-глутаминовой кислоты в 300 *мл* 50%-ного этанола добавляют свежеприготовленный никель Ренея [из 40 *г* сплава (1 : 1) никеля с алюминием]. Смесь кипятят 30 *мин*, охлаждают, отфильтровывают никель Ренея и тщательно промывают его горячей водой. Обработка объединенных филь-

трата и промывных вод небольшим количеством диметилглиоксима с последующим кратковременным нагреванием приводит к исчезновению синей окраски никель-глутаминового комплекса и осаждению красного соединения никеля с диметилглиоксимом. Этот продукт реакции отфильтровывают, фильтрат концентрируют до небольшого объема при температуре не выше 40°, полученный раствор обесцвечивают небольшим количеством активированного угля, фильтруют и разбавляют двухкратным объемом этанола. Смесь оставляют на ночь на холоду и выделяют 4,1 *г* L-глутамина в виде тонких игл; перекристаллизацию проводят из водного этанола; $[\alpha]_D^{13}$ + 8,6° (4,0% в воде).

51. О- и N-фосфоаминокислоты и пептиды. *О-Производные.* Некоторые белки, такие. как фителлин, казеин и пепсин, содержат фосфор, выделяющийся при гидролизе этих белков в форме неорганического фосфата [1003]. Методами частичного кислотного гидролиза при 100° установлено, что весь фосфор или большая его часть связана в белке с некоторыми аминокислотными остатками, причем из гидролизатов были выделены кристаллические О-фосфо-L-серин [1004—1009] и, сравнительно недавно, О-фосфо-L-треонин [1010]. Хотя оксипролин, тирозин и оксилизин также содержат гидроксильные группы, до сих пор не было получено никаких данных о включении этих соединений в фосфатные связи и не было выделено ни одной из этих аминокислот, фосфорилированной по соответствующей гидроксильной группе. Это означает, по-видимому, что в природе подвергаются О-фосфорилированию лишь те аминокислоты, которые содержат гидроксильную группу в β-положении.

Однако О-фосфорилирование любых оксиаминокислот можно осуществить синтетическим путем по общему методу, впервые предложенному Левеном и Шормюллером в 1934 г. [503] (ср. с работой [1011]) и позднее усовершенствованному Плиммером [1012]. Метод заключается в нагревании аминокислоты с приблизительно 100%-ной фосфорной кислотой и пятиокисью фосфора при 100°. Общий метод получения этих производных описан в методике 177. В общем виде реакция может быть изображена следующей схемой:

$$\underset{\mathrm{I}}{HORCH(NH_2)CO_2H} + \underset{\mathrm{II}}{H_3PO_4} + \underset{\mathrm{III}}{P_2O_5} \xrightarrow{\Delta} \underset{\mathrm{IV}}{HO-\overset{\overset{\displaystyle ORCH(NH_2)CO_2H}{|}}{\underset{\underset{\displaystyle O}{\|}}{P}}-OH}$$

Типичная методика 177 [1012]. О-Фосфо-L-тирозин. 5 *г* L-тирозина тщательно смешивают с 35 *г* фосфорной кислоты и 5 *г* пятиокиси фосфора, и смесь нагревают на водяной бане (в отсутствие влаги) приблизительно в течение 1 *час*. После охлаждения полученный сироп разбавляют ледяной водой до объема 500 *мл*, добавляют раствор гидроокиси бария до pH около 8 и осадок фосфата бария отфильтровывают. Прозрачный фильтрат упаривают в вакууме до объема около 20 *мл* и добавляют этанол до концентрации 60%; при этом осаждается бариевая соль О-фосфо-L-тирозина. Осадок отфильтровывают, растворяют в минимальном количестве воды и раствор обрабатывают насыщенным раствором основного ацетата свинца до прекращения выпадения осадка. Образовавшуюся свинцовую соль О-фосфо-L-тирозина отфильтровывают, промывают небольшим количеством ледяной воды, затем суспендируют в 100 *мл* воды и разлагают путем пропускания сероводорода до насыщения раствора. Сульфид свинца отделяют фильтрованием, фильтрат обесцвечивают путем обработки активированным углем, концентрируют в вакууме

до объема около 20 *мл* и добавляют к нему этанол до концентрации 80%. При этом быстро кристаллизуется свободный О-фосфо-L-тирозин, который для очистки перекристаллизовывают из водного этанола. В основном по аналогичной методике могут быть получены О-фосфопроизводные серина, треонина и оксипролина [1012]. При использовании этого метода α-аминогруппа не затрагивается.

Описанные выше условия фосфорилирования являются довольно жесткими, а поэтому обычно предпочитают использовать агенты, легче поддающиеся контролю, например замещенные хлорангидриды фосфорной кислоты. Однако оказалось, что эти соединения довольно легко реагируют с аминогруппой. Так, Нейберг и Эртель в 1914 г. [1013] и несколько позднее Винник и Скотт [1014] нашли, что хлорокись фосфора реагирует с α-аминогруппой свободных аминокислот и пептидов с образованием соответствующих N-фосфорпроизводных; однако выходы при этом были достаточно низкими и получение чистых веществ представило значительные трудности. Лучшие результаты в смысле выхода и чистоты продуктов реакции были получены при использовании хлорангидридов ди-(алкил- или арил)-фосфорных кислот и эфиров аминокислот [1015, 1016]. При обработке хлорангидрида диизопропилфосфорной кислоты (VI) избытком эфира серина или треонина (V) в реакцию вступает преимущественно аминогруппа (а не оксигруппа) и образуется соответствующий эфир N-(диизопропилфосфоро)-аминокислоты (VII), выделяемый в кристаллическом виде [1017]. При кипячении этого соединения в 2 н. соляной кислоте происходит N → O ацильный сдвиг с одновременным гидролизом сложноэфирной группы, и с относительно небольшим выходом получаются О-фосфосерин (VIII; R = H) и О-фосфотреонин (VIII; R = CH_3).

$$\underset{\mathrm{V}}{RCH(OH)CH(NH_2)CO_2Et} + \underset{\mathrm{VI}}{(AlkO)_2POCl} \longrightarrow \underset{\mathrm{VII}}{RCH(OH)CH[(AlkO)_2OP\cdot NH]CO_2Et} \xrightarrow[\Delta]{HCl}$$

$$\longrightarrow \underset{\mathrm{VIII}}{RCH[O\cdot P(OH)_2O]CH(NH_2)CO_2H} + \underset{\mathrm{IX}}{2AlkOH}$$

Ни один из двух описанных методов не применим для О-фосфорилирования оксиаминокислот, включенных в пептидную связь, поскольку нельзя ожидать, что пептидная связь не будет претерпевать расщепления при обработке горячей кислотой. Очевидно, что наименьшие трудности возникают в том случае, если аминогруппа защищена каким-либо селективно снимаемым заместителем, поскольку при этом фосфорилирующий агент может реагировать лишь с гидроксильной группой. Использование для этой цели N-карбобензоксигруппы впервые было описано Постернаком и Грэфлом в 1945 г. [1018]. Так, при обработке охлажденного раствора этилового эфира N-карбобензокси-L-тирозина в пиридине хлорокисью фосфора был получен этиловый эфир N-карбобензокси-О-фосфо-L-тирозина. Затем карбобензоксигруппу удаляли действием иодистого фосфония в ледяной уксусной кислоте и полученный подгидрат этилового эфира О-фосфотирозина переводили в свободное основание. Выделение продукта реакции в виде бариевой или свинцовой соли с последующим разложением этой соли сероводородом, омыление сложного эфира и подкисление приводят к получению свободного О-фосфотирозина с хорошим выходом. По этому общему методу были успешно получены некоторые пептиды О-фосфотирозина с глицином [1018]. Через двенадцать лет Райли, Тернбулл и Вильсон [498] приложили этот метод к получению О-фосфосерина, О-фосфотреонина и их пептидов, используя в качестве фосфорилирующего агента хлорангидрид дифенилфосфорной кислоты, а в каче-

стве реагента для снятия N-карбобензоксигруппы с эфиров N-карбобензокси-O-(дифенилфосфо)-серина и N-карбобензокси-O-(дифенилфосфо)-треонина — сухой бромистый водород в ледяной уксусной кислоте. Если вместо этиловых эфиров использовать бензиловые эфиры аминокислот, то сокращается ряд стадий синтеза и создается возможность одновременного удаления N-карбобензокси- и бензильной групп путем каталитического гидрогенолиза. Последовательность реакций в случае эфиров карбобензоксиаминокислот (X) и пептидов (XV) можно представить следующей схемой:

$$\underset{\text{X}}{HORCH(NHCbzo)CO_2Et} \xrightarrow{(PhO)_2PO\cdot Cl} \underset{\text{XI}}{[O\cdot P(OPh)_2O]RCH(NHCbzo)CO_2Et} \xrightarrow{HX+HOAc}$$

$$\rightarrow \underset{\text{XII}}{[O\cdot P(OPh)_2O]RCH(NH_2\cdot HX)CO_2Et} \xrightarrow[HOAc]{NaOH} \underset{\text{XIII}}{[O\cdot P(OH)_2O]RCH(NH_2)CO_2H} + \underset{\text{XIV}}{2PhOH}$$

где $Cbzo = C_6H_5CH_2OCO$, $Ph = C_6H_5$ и X = галоген

$$\underset{\text{XV}}{HORCH(NHCbzo)CONHCHRCO_2Et} \xrightarrow{(PhO)_2PO\cdot Cl}$$

$$\rightarrow \underset{\text{XVI}}{[O\cdot P(OPh)_2O]RCH(NHCbzo)CONHCHRCO_2Et} \xrightarrow{HX+HOAc}$$

$$\rightarrow \underset{\text{XVII}}{[O\cdot P(OPh)_2O]RCH(NH_2\cdot HX)CONHCHRCO_2Et} \xrightarrow[\text{Амберлит IR-120 (H}^+)]{NaOH}$$

$$\rightarrow \underset{\text{XVIII}}{[O\cdot P(OH)_2O]RCH(NH_2)CONHCHRCO_2H} + \underset{\text{XIVa}}{PhOH}$$

Соединения с другим типом связи O — P могут быть получены путем взаимодействия некоторых производных ациламинокислот с солями фосфорной кислоты. Этот метод был использован Блэком и Райтом [1019] для синтеза β-фосфата L-аспарагиновой кислоты; при реакции хлорангидрида α-бензилового эфира N-карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты (XIX) [602] со смесью 85%-ной фосфорной кислоты и фосфата серебра был получен β-фосфат α-бензилового эфира N-карбобензокси-L-аспарагиновой кислоты (XX), который путем каталитического гидрогенолиза был превращен в нужный β-фосфат L-аспарагиновой кислоты (XXI). Последний не был изолирован в индивидуальном состоянии и хранился в растворе при —20° (при pH 6—7) после отфильтровывания палладиевого катализатора. Однако даже в этих условиях наблюдалось медленное разложение полученного соединения.

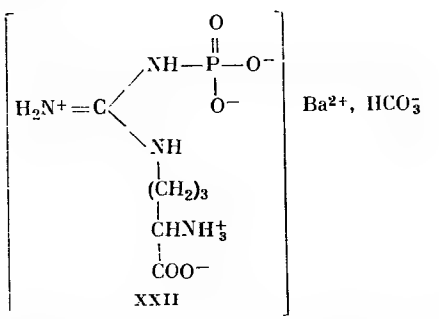
$$\underset{\text{XIX}}{Cbzo{-}NHCH(CH_2COCl)CO_2CH_2C_6H_5} \xrightarrow[Ag_3PO_4]{H_3PO_4} \underset{\text{XX}}{Cbzo{-}NHCH(CH_2CO\cdot OPO_3)CO_2CH_2C_6H_5} \xrightarrow[Pd]{H_2} \underset{\text{XXI}}{NH_2CH(CH_2CO\cdot OPO_3)CO_2H}$$

N-*Производные.* В настоящее время нет никаких данных о наличии N — P-связи в соединениях типа фосфопротеинов, хотя известно, что такая связь встречается в некоторых низкомолекулярных биологически важных соединениях, таких, как креатинфосфат или аргининфосфат. Действительно, аргининфосфат является единственной аминокислотой с N — P-связью, которая к настоящему времени найдена в биологических объектах. Эта аминокислота обнаружена в мышцах беспозвоночных и, по-видимому, выполняет в этих тканях ту же самую роль, что и креатинфосфат в мышцах позвоночных животных. Из 1 *кг* мышц свежих крабов Мейерхоф и Ломанн [1020] выделили около 300—400 *мг* аргининфосфата в виде бариевой соли

$(C_6H_{14}O_5N_4P)_2Ba\cdot 2H_2O$ с $[\alpha]_D$ + 2,0° в воде (для соли) и +5,0° (после добавления к бариевой соли эквивалентного количества соляной кислоты). Это соединение может быть выделено (после удаления ионов бария рассчитанным количеством серной кислоты) в виде кристаллического пикрата с т. пл. 205° (с разложением) или пикролоната с т. пл. 233—234° (с разложением).

Фосфатная группа может быть легко отщеплена при действии избытка разбавленной минеральной кислоты, особенно в присутствии молибдата, и эта чувствительность к кислотам вообще является весьма характерной для N — P-связи [1021]. По-видимому, аргининфосфат является совершенно инертным к действию аргиназы [1020], однако после его обработки разбавленной соляной кислотой, т. е. после отщепления фосфата, соединение становится весьма чувствительным к действию фермента. На основе этого явления Мейерхоф и Ломанн высказали мнение, что в случае аргининфосфата в связь фосфор — азот включен один из атомов азота гуанидиновой группировки, в то время как α-аминогруппа остается, по-видимому, свободной.

Усовершенствованный метод получения аргининфосфата был описан позднее Эннором, Моррисоном и Розенбергом [1022], которые из 1 *кг* мышц свежих крабов выделили около 10 *г* этого соединения (т. е. приблизительно половину всего содержащегося в них количества). Как следует из эмпирической формулы выделенного соединения, в его состав входит, по-видимому, бариевая соль фосфоаргинина, H_2CO_3 и H_2O, и строение его может быть выражено формулой (XXII):



XXII

Как было отмечено выше, все ранние попытки синтезировать соединения, в которых аминокислота связана с фосфорной кислотой, были основаны на взаимодействии аминокислоты с хлорокисью фосфора в водной среде. При этом всегда присутствовал избыток окиси магния, и продукты реакции выделялись с низким выходом в виде аморфных магниевых солей, ожидаемый состав которых находился в плохом соответствии с данными элементарного анализа. Указанный метод был исследован на примере тирозина, глицина, аланина и глутаминовой кислоты [1013, 1014]. В другом методе, предложенном позднее Скнарини и Фрутоном [1015], в качестве исходных веществ были использованы хлорангидрид дифенилфосфорной кислоты и эфиры ряда аминокислот (XXIII), таких, как глицин, DL-фенилаланин и L-глутаминовая кислота; при этом были выделены легко характеризуемые, кристаллические продукты реакции, имеющие строение XXIV.

$$\underset{\text{XXIII}}{RCH(NH_2)CO_2Et} \xrightarrow{(PhO)_2PO\cdot Cl} \underset{\text{XXIV}}{RCH[NH\cdot PO(PhO)_2]CO_2Et.}$$

По этому методу свободный аминоэфир в этилацетатном растворе обрабатывали эквивалентным количеством хлорангидрида дифенилфосфорной кис-

лоты и выделяющийся хлористый водород нейтрализовали водным раствором бикарбоната натрия. Затем этилацетатный раствор промывали водой, высушивали и концентрировали до небольшого объема; после добавления петролейного эфира выпадал кристаллический продукт реакции. Полученные производные этиловых эфиров трех вышеуказанных аминокислот имели температуры плавления 77—78, 78—79 и 73,5—74° соответственно [1015]. Попытки омылить эти эфиры небольшим избытком едкого натра привели в каждом случае лишь к выделению исходных веществ, что свидетельствует о значительной стабильности сложноэфирных связей в этих соединениях. При более жестких обработках щелочью были получены лишь трудно разделимые смеси продуктов реакции.

Аналогичные результаты получены также Вагнер-Яуреггом, О'Нейлом и Саммерсоном [1016], которые использовали хлорангидрид диизопропилфосфорной кислоты (в качестве фосфорилирующего агента) и различные эфиры аминокислот. В этом методе, а также в более позднем методе Паплингера и Вагнер-Яурегга [1017] для нейтрализации образующегося в процессе реакции хлористого водорода использовался избыток аминоэфира. Соответствующие производные этиловых эфиров глицина и серина плавились при 28—29 и 48—50°, а в случае метилового эфира треонина — при 54—56° [1016, 1017]. Использование щелочи для омыления этих соединений и в данном случае не привело к положительному результату; как уже было отмечено выше, P — N-связь легко расщепляется 2 н. соляной кислотой, однако в случае производных серина и треонина при этом происходит N → O-сдвиг и фосфатная группа мигрирует к соответствующему β-кислородному атому (VII→VIII).

Несколькими годами ранее Зервас [1023] предложил использовать в качестве фосфорилирующего агента для некоторых галогенпроизводных сахаров дибензилфосфат серебра; особое преимущество этого реагента заключается в возможности легкого удаления бензильных групп с полученных дибензилфосфорилированных соединений посредством каталитического гидрогенолиза. На основе этого Атертон, Оненшоу и Тодд предложили в качестве фосфорилирующего агента, особенно эффективного в случае аминов, хлорангидрид дибензилфосфорной кислоты. Используя этот реагент, Ли [1024] получил N-дибензилфосфорпроизводные ряда эфиров аминокислот, однако лишь в случае производных метилового эфира DL-фенилаланина и метилового эфира DL-триптофана оказалось возможным удалить бензильные группы путем каталитического гидрогенолиза (H_2, PdO_2). Этим путем были получены метиловый эфир N-фосфо-DL-фенилаланина (т. пл. 143—145°) и метиловый эфир N-фосфо-DL-триптофана (т. пл. 130—132°). Однако омылить сложноэфирные группы в этих соединениях для получения свободных N-фосфоаминокислот оказалось невозможным, в связи с чем Ли высказал предположение, что, по-видимому, использование бензиловых эфиров аминокислот может устранить это осложнение. Таким образом, оказалось, что в то время как O-фосфоаминокислоты и пептиды являются синтетически вполне доступными, получение N-фосфоаминокислот и пептидов представляет значительные трудности.

Эта проблема была решена в 1955 году Зервасом и Кацояннисом [914], а также Зервасом и Диларис [1025]. Эти исследователи предложили общий метод синтеза N-фосфоаминокислот и пептидов, основанный на использовании новых фосфорилирующих агентов, а именно хлорангидридов ди-*n*-нитробензилфосфорной кислоты и ди-*n*-иодбензилфосфорной кислоты. Эти соединения обрабатывали избытком соответствующего аминоэфира в хлороформном растворе, осадок хлоргидрата аминоэфира отделяли, а промытый и высушенный хлороформный раствор концентрировали до небольшого объема; при добавлении к полученному раствору гексана выпадал соответствующий эфир N-фосфоаминокислоты. Сложноэфирная группа в полученных соединениях была омылена этанольным раствором щелочи и затем *n*-замещенные бензильные группы отщеплялись путем каталитического гидрогенолиза в этаноле. В тех случаях, когда использовался бензиловый эфир аминокислоты или пептида, отпадала необходимость в омылении продукта конденсации перед гидрогенолизом, поскольку все защитные бензильные группы могли быть удалены одновременно путем гидрогенолиза в спиртовом растворе в присутствии триметиламина.

$$\underset{\text{XXV}}{RCH[NH\cdot PO(C_6H_4XCH_2O)_2]CO_2CH_2C_6H_5} \xrightarrow[(CH_3)_3N]{H_2,\ Pd} \underset{\text{XXVI}}{RCH(NH\cdot PO\cdot O^-\cdot OH)COO^-\cdot Ba^{2+}},$$

где X=I или NO_2

Фосфорилирующие агенты, использованные в вышеописанной реакции, были получены путем кратковременного нагревания соответствующего триэфира фосфорной кислоты с иодистым барием или натрием [1025], приводящего к диэфиру фосфорной кислоты, который затем обрабатывали пятихлористым фосфором с образованием соответствующего хлорангидрида замещенной фосфорной кислоты. Используемые в качестве исходных веществ триэфиры получали при взаимодействии фосфата серебра с соответствующим *n*-замещенным бензилгалогенидом. При реакции *n*-иодбензильного производного фосфорной кислоты с бензиловым эфиром глицина с хорошим выходом образуется бензиловый эфир N-ди-(*n*-иодбензил)-фосфороглицина (XXV; R=H)

Таблица 99

O-Фосфоаминокислоты и пептиды

Соединение	Т. пл., °C	$[\alpha]_D$, град.	Литература
O-Фосфо-L-серин (Ba-соль)	—	+8,2 (10% HCl)	1004
O-Фосфо-L-серин	167	+7,2 (H_2O)	1009
O-Фосфо-DL-серин	166—167	—	1017
O-Фосфо-L-серин (Ba-соль)	—	+9,4 (10% HCl)	503
O-Фосфо-DL-серин (Ba-соль)	165—166	—	1012
O-Фосфо-DL-серин	165—166	—	498
O-Фосфо-L-серин (Ba-соль)	—	+5,5 (HCl)	498
O-Фосфо-L-серин	175—176	—	498
O-Фосфо-DL-серилглицин	150—154	—	498
O-Фосфо-L-серил-L-глутаминовая кислота	145—147	—	498
O-Фосфо-DL-треонин	150—152	—	498
O-Фосфо-L-треонин	—	−7,4(H_2O)	1010
O-Фосфо-L-тирозин	225	−9,2 (2 н. HCl)	1012
O-Фосфо-L-тирозин	227	−8,8 (2 н. HCl)	1018
O-Фосфо-L-оксипролин (безводный)	130—131	−28,8(H_2O)	1012
O-Фосфо-L-оксипролин (Ba-соль)	—	−13,3 (10% HCl)	503
Глицил-O-фосфо-L-тирозин	224—225	+27,9 (1 н. H_2SO_4)	1018
O-Фосфо-L-тирозилглицин	178	+20,0 (1 н. H_2SO_4)	1018
O-Фосфо-L-тирозилглицилглицин	182	+7,5 (1 н. H_2SO_4)	1018
Глицил-O-фосфо-L-тирозилглицин	198	+8,0 (1 н. H_2SO_4)	1018

с т. пл. 89°. При каталитическом гидрировании последнего с выходом 90% был получен чистый N-фосфоглицин в виде бариевой соли (XXVI; R=H) [914]. Аналогично, этиловые эфиры L-тирозина и глицил-L-тирозина при реакции с хлорангидридом ди-*п*-иодбензилфосфорной кислоты образуют с высоким выходом эфиры N-ди-(*п*-иодбензил)-фосфоро-L-тирозина и -глицил-L-тирозина с т. пл. 143 и 127—128° соответственно. При омылении сложноэфирных групп в полученных соединениях 0,1 н. этанольным раствором едкого натра (15 *мин* при комнатной температуре) и последующем каталитическом гидрогенолизе в присутствии палладиевой черни для удаления замещенных бензильных групп были получены N-фосфо-L-тирозин и N-фосфоглицил-L-тирозин, выделенные в чистом состоянии в виде соответствующих бариевых солей; последние образуются при действии иодистого бария в метаноле, насыщенном гидроокисью бария (выходы 85 и 95% соответственно). Аналогичным образом из этилового эфира N-ди-(*п*-нитробензил)-фосфороглицил-глицина (т. пл. 112—113°) была получена чистая бариевая соль N-фосфоглицилглицина (выход 80%) [914]. В табл. 99 приведены некоторые O- и N-фосфорилированные аминокислоты и пептиды.

52. Бензоиламинокислоты. Широкое использование бензоиламинокислот для целей охарактеризования, а также в качестве исходных веществ при синтезе бензоилированных пептидов, используемых в изучении специфичности энзимов, связано с легкостью получения этих соединений и их склонностью существовать в кристаллической форме. Получение бензоиламинокислот из соответствующих аминокислот наиболее удобно проводить по методу Шоттена — Бауманна с использованием в качестве ацилирующего агента хлористого бензоила. Условия, обычно применяемые для бензоилирования моноаминомонокарбоновых кислот, детально описаны в методике 178. Соответствующее видоизменение этой методики позволяет использовать ее также в случае аминокислот, содержащих дополнительную кислотную или основную группу; поскольку карбобензоксилирование более сложных аминокислот обсуждалось ранее (раздел 14) и все выводы приложимы и в случае бензоиламинокислот, то нет необходимости в более детальном рассмотрении этого вопроса.

Типичная методика 178. Бензоилирование α-аминокислот. Раствор 0,1 моля соответствующей аминокислоты в 60 *мл* 2 н. раствора едкого натра охлаждают в бане со льдом и затем при периодическом энергичном встряхивании обрабатывают 15 *г* (0,11 моля) бензоилхлорида (10 равными порциями); раствор необходимо все время поддерживать при щелочных значениях pH путем добавления, в случае необходимости, дополнительного количества щелочи. После окончания добавления реагентов реакционную смесь встряхивают 15 *мин* при комнатной температуре и затем при охлаждении подкисляют (по конго красному) путем добавления по каплям концентрированной соляной кислоты. Смесь оставляют примерно на 2 *час* при 4°, осадок отфильтровывают, несколько раз промывают ледяной водой и высушивают на воздухе в течение ночи. Примесь бензойной кислоты удаляют из продукта реакции путем кипячения его в 30—40 *мл* четыреххлористого углерода и последующего фильтрования слегка охлажденной смеси. Окончательную очистку оставшегося вещества осуществляют кристаллизацией из водного этанола или другого подходящего растворителя. Выходы обычно составляют свыше 80% теории.

В табл. 100 приведены некоторые из описанных ранее наиболее обычных бензоиламинокислот.

Таблица 100

Бензоиламинокислоты

Бензоиламинокислоты	Т. пл., °C	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, град.	температура, °C	концентрация и растворитель	
DL-Аланин	165—166	—	—	—	1026, *1027*
D-Аланин	150—151	−37,3 [а]	20	−, H_2O+ +1 экв. KOH	1027
L-Аланин	150—151	+37,1	20	9,3%, H_2O+ +1 экв. KOH	1027
DL-Аргинин (α-моно)	315 (разл.)	—	—	—	1028
DL-Аргинин (α, ω-ди-)	230	—	—	—	848
L-Аргинин (α-моно)	298 (разл.)	−8,1	20	1,2%, H_2O+ +1 экв. HCl	1029
L-Аргинин (α, ω-ди-)	244	+10,3	20	7%, 0,2 *M* NaOH	142
DL-Аспарагиновая кислота	164—165 [б]	—	—	—	*1027*, 1030
D-Аспарагиновая кислота	184—185	−37,6	20	10%, H_2O+ +2 экв. KOH	1027
L-Аспарагинован кислота	184—185	+37,4	20	9%, H_2O+ +2 экв. KOH	1027
DL-Аспарагин	190—192	—	—	—	589
DL-Цистеин	137	—	—	—	1031
DL-Цистин (*бис*-)	165—166	—	—	—	1031
L-Цистин (*бис*-)	195—196	−222	20	−, EtOH	1032
DL-Глутаминовая кислота	155—157	—	—	—	1027
D-Глутаминован кислота	130—132	−18,7	20	10%, H_2O+ +2 экв. KOH	1027
L-Глутаминовая кислота	137—139 [в]	+17,2	20	10%, H_2O+ +2 экв. KOH	1027
Глицин	187,5	—	—	—	1033
DL-Гистидин	248 (с разл.)	—	—	—	1034
L-Гистидин·H_2O	249	−47,4	20	−, 0,5 *M* HCl	*297*, 1035, 1036
DL-Оксилизин (ди-)	139—141	—	—	—	1037
D-Оксилизин (ди-)	168—170	−4,0	25	1%, EtOH	1037, *1038*
Лактон D-*алло*-оксилизина (ди-)	196—198	—	—	—	1038
L-Оксилизин (ди-)	172	—	—	—	1037
DL-Изолейцин	138—139	—	—	—	1039
DL-*алло*-Изолейцин	118—119	—	—	—	1039
L-Изолейцин	116—117	+26,4	20	7,5%, 0,5 *M* NaOH	1040
DL-Лейцин	137—141	—	—	—	1041
D-Лейцин	105—107	−6,4	20	9,5%, 0,5 *M* KOH	1040, 1041
L-Лейцин	105—107	+6,6	20	9,5%, 0,5 *M* KOH	1040, 1041
DL-Лизин (α-моно-)	211 [г]	—	—	—	*854*, 1042
DL-Лизин (ε-моно-)	268—270	—	—	—	1043, *1044*
DL-Лизин (α, ε-ди-)	145—146	—	—	—	1043, 1045

Продолжение табл. 100

Бензоиламинокислоты	Т. пл., °С	Удельное вращение			Литература
		$[\alpha]_D$, град.	температура, °С	концентрация и растворитель	
L-Лизин (α-моно-)	250 (с разл.)	+21,6	25	–, H_2O+ +1 экв. NaOH	1046
L-Лизин (ε-моно-)	240 (с разл.)	+20,1 д	19	1,9%, 1 н. HCl	*1047*, 1048
L-Лизин (α, ε-ди-)	149—150	+3,1 е	20	3,2%, 0,1 н. NaOH	1047
DL-Метионин	151	—	—	—	1049
DL-Орнитин (α, δ-ди-)	187—188	—	—	—	238
L-Орнитин (α, δ-ди-)	187—188	+8,8	—	10%, H_2O+ +1 экв. KOH	142
DL-Фенилаланин	187—188	—	—	—	1050
D-Фенилаланин	145—146	–17,1	20	6,5%, 1 н. KOH	1050
L-Пролин	158—159	–100,5	25	0,2%, EtOH	1039
DL-Серин	171	—	—	—	1051
L-Серин	147—149	+43,6	22	1%, EtOH	1031
DL-Треонин	143—144	—	—	—	1052
DL-*алло*-Треонин	175—176	—	—	—	1052
D-Треонин	147—148	—	—	—	1052
L-Треонин	143—144 ж	+27,1	21	0,8%, H_2O	1053
DL-Триптофан	193—194	—	—	—	1054
L-Триптофан	104—105	—	—	—	659
DL-Тирозин	195—197	—	—	—	1055
D-Тирозин	165,5	–19,6	20	7,7%, H_2O+ +1 экв. KOH	1055
L-Тирозин	165—166	+19,3	20	8%, H_2O+ +1 экв. KOH	1055
DL-Валин	132,5	—	—	—	152
L-Валин	131—132	+21,8	25	4,9%, EtOH	1056

а $[\alpha]_D^{20}$ –3.3° (1% в воде) [1027].

б Т. пл. 172° [1030].

в Соединение плавится при 128°.

г Т. пл. 227–229° [1042].

д $[\alpha]_D$+27,2° (2,2% в 50%-ной уксусной кислоте) [1048].

е $[\alpha]_D^{15}$–8,6° (20% в метаноле) [1047].

ж Т. пл. 147–148° [1052].

ЛИТЕРАТУРА

1. Fischer E., Ber., 39, 530 (1906).
2. Braconnot H., Ann. chim. phys., [2] 13, 113 (1820).
3. Hofmeister F., Ergeb. Physiol., 1. Abt. Biochemie, p. 759 (1902).
4. Pauling L., Record Chem. Progr., 12, 155 (1951).
5. Synge R. L. M., Quart. Revs. (London), 3, 245 (1949).
6. Передовая статья журнала о номенклатуре, J. Chem. Soc., 1952, 5075, 5089.

7. Brand E., Ann. N. Y. Acad. Sci., 47, 189 (1946).
8. Sanger F., Advances in Protein Chem., 7, 1 (1952).
9. Hopkins F. G., J. Biol. Chem., 84, 269 (1929).
10. Harington C. R., Mead T. H., Biochem. J., 29, 1602 (1935).
11. du Vigneaud V., Miller G. L., J. Biol. Chem., 116, 469 (1936).
12. Hopkins F. G., Biochem. J., 15, 286 (1921).
13. Mowat J. H., Boothe J. H., Hutchings B. L., Stokstad E. L. R., Waller C. W., Angier R. B., Semb J., Casulich D. B., Subba Row Y., Ann. N. Y. Acad. Sci., 48, 279 (1946).
14. Stokstad E. L. R., Hutchings B. L., Subba Row Y., Ann. N. Y. Acad. Sci., 48, 261 (1946).
15. Stokstad E. L. R., Hutchings B. L., Mowat J. H., Boothe J. H., Waller C. W., Angier R. B., Semb J., Casulich D. B., Subba Row Y., Ann. N. Y. Acad. Sci., 48, 269 (1946).
16. Hutchings B. L., Stokstad E. L. R., Bohonos N., Sloane N., Subba Row Y., Ann. N. Y. Acad. Sci., 48, 265 (1946).
17. Pfiffner J. J., Calkins D. G., Bloom E. S., O'Dell B. L., J. Am. Chem. Soc., 68, 1392 (1946).
18. Pfiffner J. J., Calkins D. G., O'Dell B. L., Bloom E. S Brown R. A., Campbell C. J., Bird O. D., Science, 102, 228 (1945).
19. Rinderknecht H., Chem. & Ind., 1957, 1384; Rinderknecht H., Thomas D., Aslin S., Helv. Chim. Acta, 41, 1 (1958).
19a. Morris C. J., Thompson J. F., Arch, Biochem. Biophys., 73, 281 (1958).
20. Dekker C. A., Stone D., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 181, 719 (1949).
20a. Shiba T., Imai S., Kaneko T., Bull. Chem. Soc. Japan, 31, 244 (1958).
21. Ohira T., J. Agr. Chem. Soc. Japan, 16, 293 (1940).
22. Kaneko T., Shiba T., Watarai S., Imai S., Shimada T., Ueno K., Chem. & Ind., 1957, 986.
22a. Virtanen A. I., Ettala T., Acta Chem. Scand., 12, 787 (1958).
23. Hall L. M., Cohen P. P., Federation Proc., 15, 266 (1956).
24. Hall L. M., Metzenberg R. L., Cohen P. P., Nature, 178, 1468 (1956).
25. Tallan H. H., Moore S., Stein W. H., J. Biol. Chem., 219, 257 (1956).
26. Salkowski E., Salkowski H., Ber., 12, 653 (1879).
27. Thierfelder H., Sherwin C. P., Ber., 47, 2630 (1914).
28. Totani G., Z. physiol. Chem., 68, 75 (1910).
29. von Liebig J., Ann. Physik, 17, Ser. 2., 389 (1829).
30. Henneberg W., Stohmann F., Rautenberg F., Ann., 124, 181 (1862).
31. Jaffe M., Ber., 10, 1925 (1877); 11, 406 (1878).
32. Ellinger A., Z. physiol. Chem., 29, 334 (1900).
33. Jaffe M., Ber., 12, 1092 (1879).
34. Baumann E., Preusse C., Z. physiol. Chem., 5, 309 (1881).
35. Stoll A., Hofmann A., Petrzilka T., Helv. Chim. Acta, 34, 1544 (1951).
36. Nelson E. E., Calve[illegible] H. O., Physiol. Revs., 18, 297 (1938).
37. Guggisberg H., Mutterkorn, vom Gift zum Heilstoff, S. Karger, Basel, 1954.
38. Birkinshaw J. H., Raistrick H., Smith G., Biochem. J., 36, 829 (1942).
39. Plattner P. A., Clauson-Kass N., Experientia, 1, 195 (1945).
40. Woolley D. W., J. Biol. Chem., 176, 1291, 1299 (1948).
41. Plattner P. A., Clauson-Kass N., Helv. Chim. Acta, 28, 188 (1945).
41a. Brenner M., Tamm R., Quitt P., Helv. Chim. Acta, 41, 763 (1958).
42. Wolf D. E., Valiant J., Peck T. L., Folkers K., J. Am. Chem. Soc., 74, 2002 (1952).

43. Wright L. D., Cresson E. L., Skeggs H. R., Wood T. R., Peck R. L., Wolf D. E., Folkers K., J. Am. Chem. Soc., 74, 1996 (1952).
44. Baumann L., Ingvaldsen T., J. Biol. Chem., 35, 263 (1918).
45. Barger G., Tutin F., Biochem. J., 12, 402 (1918).
46. Gulewitsch W., Amiradzibi S., Ber., 33, 1902 (1900).
47. Gulewitsch W., Amiradzibi S., Z., physiol. Chem., 30, 565 (1900).
48. Linneweh W., Keil A. W., Hoppe-Seyler F. A., Z. physiol. Chem., 183, 11 (1924).
49. Linneweh W., Linneweh F., Z. physiol. Chem., 189, 80 (1930).
50. Behrens O. K., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 120, 517 (1937).
51. Ackermann D., Timpe O., Poller K., Z. physiol. Chem., 183, 1 (1929)
52. Kendo K., J. Biochem., 36, 265 (1942).
53. Ono T., Hirohata R., Z. physiol. Chem., 304, 77 (1956).
54. Imamura H., J. Biochem., 30, 479 (1939).
55. Sobotka H., The Chemistry of the Sterids, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1938.
56. Waley S. G., Proc. Chem. Soc., 25 (1957).
57. Waley S. G., Biochem. J., 64, 715 (1956).
58. Waley S. G., Biochem. J., 67, 172 (1957); 68, 189 (1958).
59. Elliott D. F., Peart W. S., Nature, 177, 572 (1956).
60. Peart W. S., Biochem. J., 62, 520 (1956).
61. Lentz K. E., Skeggs L. T., Woods K. R., Kahn J. R., Shumway N. P., J. Exptl. Med., 104, 183 (1956).
62. Skeggs L. T., Lentz K. E., Kahn J. R., Shumway N. P., Woods K. R., J. Exptl. Med., 104, 193 (1956).
63. Skeggs L. T., Marsh W. H., Kahn J. R., Shumway N. P., J. Exptl. Med., 99, 275 (1954); Skeggs L. T., Kahn J. R., Shumway N. P., ibid., 103, 295, 301 (1956).
64. Fischer E., Reif G., Ann., 363, 118 (1908).
65. Wintersteiner O., Pfiffner J. J., J. Biol. Chem., 111, 599 (1935).
66. Butenandt A., Karlson P., Zillig W., Z. physiol. Chem., 288, 279 (1951).
67. Wieland T., Schön W., Ann., 593, 157 (1955).
68. Lynen F., Wieland V., Ann., 533, 93 (1937).
69. Wieland H., Witkop B., Ann., 543, 171 (1940).
69a. Heinemann B., Gourevitch A. G., Lein J., Johnson D. L., Kaplan M. A., Vanas D., Hooper I. R., Antibiotics Ann., 2, 728 (1954—1955); Haskell T. H., Maretzki A., Bartz Q. R., ibid., 2, 784 (1954—1955); Sheehan J. C., Zachau H. G., Lawson W. B., J. Am. Chem. Soc., 80, 3349 (1958).
70. Consden R., Gordon A., Martin A. J. P., Synge R. L. M., Biochem. J., 41, 596 (1947).
71. Battersby A. R., Craig L. C., J. Am. Chem. Soc., 73, 1887 (1951).
72. Sanger F., Biochem. J., 40, 261 (1946).
73. Гаузе Г. Ф., Бражникова М. Г., Советский грамицидин и лечение ран, Медгиз, М., 1943.
74. Paladini A., Craig L. C., J. Am. Chem. Soc., 76, 688 (1954).
75. Battersby A. R., цит. в King T. P., Craig L. C., J. Am. Chem. Soc., 77, 6627 (1955).
76. Hotchkiss R. D., Dubos R. J., J. Biol. Chem., 136, 803 (1940); 141, 155 (1941).
77. Biserte B. G., Dautrevaux M., Compt. rend., 242, 1801 (1956).
78. Wilkinson S., Nature, 164, 622 (1949); Long P. H., ed., Ann. N. Y. Acad. Sci., 51, Art. 5 (1949).

79. Vining L. C., Taber W. A., Can. J. Chem., 35, 1109 (1957).
80. du Vigneaud V., Ressler C., Trippett S., J. Biol. Chem., 205, 949 (1953).
81. Tuppy H., Michl H., Monatsh. Chem., 84, 1011 (1953).
82. du Vigneaud V., Ressler C., Swan J. M., Roberts C. W., Katsoyannis P. G., J. Am. Chem. Soc., 76, 3115 (1954).
83. Ott I., Scott J., J. Exptl. Med., 11, 326 (1909).
84. Dale H. H., Biochem. J., 4, 427 (1909).
85. Turner R. A., Pierce J. G., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 191, 21 (1951).
86. Popenoe E. A., Lawler H. G., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 74, 3713 (1952).
87. du Vigneaud V., Lawler H. C., Popenoe E. A., J. Am. Chem. Soc., 75, 4880 (1953).
88. Bartlett M. F., Jöhl A., Roeske R., Stedman R. J., Stewart F. H. C., Ward D. N., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 78, 2905 (1956).
89. Oliver G., Schäfer A. E., J. Physiol., 18, 277 (1895).
90. Clarke H. T., Johnson J. R., Robinson R., The Chemistry of Penicillin, Princeton Univ. Press, Princeton, N. J., 1949.
91. Fleming A., Brit. J. Exptl. Pathol., 10, 226 (1929).
92. Hidy P. H., Hodge E. B., Young V. V., Harned R. L., Brewer G. A., Phillips W. F., Runge W. F., Stavely H. E., Pohland A., Boaz H., Sullivan H. R., J. Am. Chem. Soc., 77, 2345 (1955).
93. Buhs R. P., Potter I., Ormond I., Lyons J. E., Chaiet L., Kuehl F. A., Wolf F. J., Trenner N. R., Peck R. L., Howe E., Hunnewell B. D., Downing G., Newstead E., Folkers K., J. Am. Chem. Soc., 77, 2344 (1955).
94. Schaal E., Ann., 157, 26 (1871).
95. Grimaux E., Bull. soc. chim., 38, 64 (1882).
96. Curtius T., Ber., 16, 755 (1883).
97. Curtius T., Ber., 37, 1284 (1904).
98. Schiff H., Ber., 30, 2449 (1897); Ann., 303, 183 (1898); 307, 231 (1899).
99. Schützenberger P., Compt. rend., 106, 1407 (1888); 112, 198 (1891).
100. Lilienfeld L., Arch. Physiol., 383, 555 (1894).
101. Balbiano L., Trasciatti D., Ber., 33, 2323 (1900); Balbiano L., ibid., 34, 1501 (1901); Gazz. chim. ital., 32, 410 (1902).
102. Leuchs H., Ber., 39, 857 (1906).
103. Fischer E., Forneau E., Ber., 34, 2868 (1901).
104. Wessely F., Z. physiol. Chem., 146, 72 (1925).
105. Frankel M., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 64, 2264 (1942).
106. Frankel M., Katchalski E., Nature, 144, 330 (1939).
107. Frankel M., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 64, 2268 (1942).
108. Pacsu E., Nature, 144, 551 (1939).
109. Pacsu E., Wilson E. J., J. Org. Chem., 7, 117 (1942).
110. Wilson E. J., Pacsu E., J. Org. Chem., 7, 126 (1942).
111. Woodward R. B., Schramm C. H., J. Am. Chem. Soc., 69, 1551 (1947).
112. Katchalski E., Advances in Protein Chem., 6, 123 (1951).
113. Bamford C. H., Elliott A., Hanby W. E., Synthetic Polypeptides, Academic Press, New York, 1956.
114. Curtius T., J. prakt. Chem., 26, 175 (1882).
115. Curtius T., Ber., 35, 3226 (1902).
116. Curtius T., Lambotte E., J. prakt. Chem., 70, 109 (1904).
117. Curtius T., Levy L., J. prakt. Chem., 70, 89 (1904).

118. Curtius T., Curtius H., J. prakt. Chem., 70, 158 (1904).
119. Curtius T., Gumlich O., J. prakt. Chem., 70, 195 (1904).
120. Fischer E., Ber., 36, 2094 (1903).
121. Fischer E., Otto E., Ber., 36, 2106 (1903).
122. Greenstein J. P., в книге The Chemistry of the Amino Acids and Proteins, Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 2nd ed., 1944, p. 252.
123. Bergmann M., Stern F., Witte C., Ann. 449, 277 (1926).
124. Bergmann M., Köster H., Z. physiol. Chem., 167, 91 (1927).
125. Bergmann M., Zervas L., du Vigneaud V., Ber, 62, 1905 (1929).
126. Fischer E., Ber., 48, 93 (1915).
127. Schoenheimer R., Z. physiol. Chem., 154, 203 (1926).
128. Bergmann M., Zervas L., Ber., 65, 1192 (1932).
129. Bergmann M., Fruton J. S., Advances in Enzymol., 1, 63 (1941).
130. Bergmann M., Advances in Enzymol., 2, 49 (1942).
131. Neurath H., Schwert G. W., Chem. Revs., 46, 69 (1950).
132. Smith E. L., в книге The Enzymes, Vol. I, Part 2, Academic Press, New York, 1951, p. 793.
133. Colowick S. P., Kaplan N. O., eds., Methods in Enzymology, Vol. II, Academic Press, New York, pp. 3—423, 1955.
134. Marvel C. S., Horning E. C., в книге Organic Chemistry, Vol. I, John Wiley and Sons, New York, 2nd ed., 1942, p. 701.
135. Kohler H., Ann., 134, 369 (1865).
136. Kovacs J., Könyves I., Pusztai A., Experientia, 9, 459 (1953).
137. Maillard L. C., Ann. chim., 1, 519 (1914); 2, 210 (1914).
138. Meyer K. H., Go V., Helv. Chim. Acta, 17, 1488 (1934).
139. Baniel A., Frankel M., Friedrich I., Katchalski E., J. Org. Chem., 13, 791 (1948).
140. Shibata K., Acta phytochim. (Tokyo), 2, 39 (1925).
141. Fischer E., Suzuki U., Ber., 38, 4173 (1905).
142. Zervas L., Bergmann M., Ber., 61, 1195 (1928).
143. Fischer E., Koenigs E., Ber., 37, 4585 (1904).
144. Fischer E., Koenigs E., Ber., 40, 2048 (1907).
145. Fischer E., Suzuki U., Z. physiol. Chem., 45, 405 (1905).
146. Bouveault L., Locquin R., Compt. rend., 141, 115 (1905).
147. Hugonenq L., Morel A., Compt. rend., 140, 505 (1905).
148. Bouveault L., Locquin R., Bull. soc. chim., 31, 1180 (1904).
149. Adamson D. W., J. Chem. Soc., 1943, 39.
150. Katchalski E., Grossfeld I., Frankel M., J. Am. Chem. Soc. 68, 879 (1946).
151. Fischer E., Ber., 34, 433 (1901).
152. Slimmer M. D., Ber., 35, 401 (1902).
153. Edlbacher S., Bonem P., Z. physiol. Chem., 145, 69 (1925).
154. Kossel A., Staudt W., Z. physiol. Chem., 170, 91 (1927).
155. Waldschmidt-Leitz E., Schäffner A., Schlatter H., Klein W., Ber., 61, 299 (1928).
156. Fischer E., Ber., 39, 453 (1906).
157. Fischer E., Ber., 39, 2893 (1906).
158. Abderhalden E., Fodor A., Ber., 49, 561 (1916).
159. Rees P. S., Tong D. P., Young G. T., J. Chem. Soc., 1954, 662.
160. Brockmann H., Tummes H., von Metzsch F. A., Naturwiss., 41, 37 (1954).
161. Ruggli P., Ann., 392, 92 (1912).
162. Sluyterman L. A., Veenendaal H. I., Rec. trav. chim. 71, 137 (1952).

163. Sluyterman L. A., Kooistra M., Rec. trav. chim., 71, 277 (1952).
164. Brockmann H., Musso H., Chem. Ber., 87, 581 (1954).
165. Rydon H. N., Smith P. W. G., J. Chem. Soc., 1955, 2542.
166. Schramm G., Restle H., Makromol. Chem., 13, 117 (1954).
167. Edsall J. T., J. Polymer Sci., 12, 253 (1954).
168. Abderhalden E., Nienburg H., Fermentforsch., 13, 573 (1933).
169. Smith E. L., Bergmann M., J. Biol. Chem., 153, 627 (1944).
170. Rydon H. N., Smith P. W. G., J. Chem. Soc., 1956, 3642; Smith P. W. G., ibid., 1957, 3985.
171. Fischer E., Ber., 35, 1095 (1902).
172. Bopp H., Ann., 69, 28 (1849).
173. Hesse O., Limpricht H., Ann., 116, 201 (1860).
174. Preu I., Ann., 134, 372 (1865).
175. Erlenmeyer E., Lipp A., Ann., 219, 179 (1883).
176. Mylius F., Ber, 17, 286 (1884).
177. Meyer P. J., Ber., 10, 1967 (1877).
178. Sannie C., Bull. soc. chim., 9, 487 (1942).
179. Schott H. F., Larkin J. B., Rockland L. B., Dunn M. S., J. Org. Chem., 12, 490 (1947).
180. Curtius T., Goebel F., J. prakt. Chem., 37, 173 (1888).
181. Abderhalden E., Suzuki S., Z. physiol. Chem., 176, 101 (1928).
182. Kapfhammer J., Matthes K., Z. physiol. Chem., 223, 43 (1934).
183. Fischer E., Jacobs W. A., Ber., 39, 2942 (1906).
184. Fischer E., Leuchs H., Ber., 35, 3787 (1902).
185. Fischer E., Scheibler H., Ann., 363, 136 (1908).
186. Huang H. T., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 72, 921 (1950).
187. Fischer E., Ann., 340, 126 (1905).
188. Abderhalden E., Hass R., Z. physiol. Chem., 153, 146 (1926).
189. Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 118, 321 (1937).
190. Astbury, частное сообщение.
191. du Vigneaud V., Patterson W. I., Hunt M., J. Biol. Chem., 126, 217 (1938).
192. Abenius P. W., Widman O., Ber., 21, 1662 (1888).
193. Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 121, 9 (1937).
194. Fischer E., Ber., 38, 605 (1905).
195. Fischer E., Kautzch K., Ber, 38, 2375 (1905).
196. Fischer E., Raske K., Ber., 39, 3981 (1906).
197. Fischer E., Schrauth W., Ann., 354, 21 (1907).
198. Levene P. A., Steiger R. E., Marker R. E., J. Biol. Chem., 93, 605 (1931).
199. Bergmann M., Zervas L., Köster H., Ber., 62, 1901 (1929).
200. Bergmann M., Tietzman J. E., J. Biol. Chem., 155, 535 (1944).
201. Schotten C., Ber., 17, 2544 (1884); Baumann E., ibid., 19, 3218 (1886).
202. Curtius T., Wüstenfeld R., J. prakt. Chem., 70, 73 (1904).
203. Curtius T., J. prakt. Chem., 70, 57 (1904).
204. Curtius T., van der Linden C. F., J. prakt. Chem., 70, 137 (1904).
205. Curtius T., Müller E., J. prakt. Chem., 70, 223 (1904).
206. Curtius T., Lenhard W., J. prakt. Chem., 70, 230 (1904).
207. Fischer E., Bergell P., Ber, 36, 2592 (1903).
208. Fischer E., Axhausen W., Ann., 340, 123 (1905).
209. Fischer E., Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine, Julius Springer, Berlin, 1906, p. 26.
210. Wessely F., Kemm E., Z. physiol. Chem., 174, 306 (1928).

211. Wessely F., Kemm E., Mayer J., Z. physiol. Chem., 180, 64 (1929).
212. Fischer E., Ber., 36, 2982 (1903).
213. Fischer E., Ber., 37, 2486 (1904).
214. Fischer E., Schulze A., Ber., 40, 943 (1907).
215. Fischer E., Ber., 41, 850 (1908).
216. Abderhalden E., Hirszowski A., Ber, 41, 2840 (1908).
217. Fischer E., Kropp W., Ann., 362, 338 (1908).
218. Fischer E., Fiedler A., Ann., 375, 181 (1910).
219. Fischer E., Gerngross O., Ber., 42, 1485 (1909).
220. Abderhalden E., Guggenheim M., Ber., 41, 1237 (1908).
221. Fischer E., Kropp W., Stahlschmidt A., Ann., 365, 181 (1909)
222. Leuchs H., Suzuki U., Ber., 37, 3306 (1904).
223. Fischer E., Steingroever J., Ann., 365, 167 (1909).
224. Fischer E., Schoeller W., Ann., 357, 1 (1907).
225. Fischer E., Roesner H., Ann., 375, 199 (1910).
226. Abderhalden E., Kempe M., Ber., 40, 2737 (1907).
227. Fischer E., Ber., 41, 2860 (1908).
228. Fischer E., Suzuki U., Ber., 37, 4575 (1904).
229. Fischer E., Ber., 40, 3704 (1907).
230. Fischer E., Ber., 40, 1745 (1907).
231. Fischer E., Cone L. H., Ann., 363, 107 (1908).
232. Fischer E., Koelker A. H., Ann., 354, 39 (1907).
233. Fischer E., Ber., 37, 3062 (1904).
234. Fischer E., Blank P., Ann., 354, 1 (1907).
235. Fischer E., Schenkel J., Ann., 354, 12 (1907).
236. Fischer E., Scheibler H., Ber, 41, 2891 (1908).
237. Willstätter R., Ber., 33, 1160 (1900).
238. Fischer E., Ber., 34, 454 (1901).
239. Fischer E., Suzuki U., Ber., 37, 2842 (1904).
240. Frankel M., Kuk S., Biochem. Z., 226, 221 (1930).
241. Grassmann W., Schoeneheck O., Auerbach G., Z. physiol. Chem., 210, 1 (1932).
242. Abderhalden E., Sickel H., Z. physiol. Chem., 159, 166 (1926).
243. Fischer E., Abderhalden E., Ber., 37, 3071 (1904).
244. Fischer E., Gluud W., Ann., 369, 247 (1909).
245. Liwschitz Y., Zilkha A., J. Am. Chem., Soc., 77, 1265 (1955).
246. Bertho A., Maier J., Ann., 498, 50 (1932).
247. Freudenberg K., Eichel H., Leutert F., Ber., 65, 1183 (1923).
248. Freudenberg K., Märkert L., Ber., 60, 2447 (1927).
249. Brewster P., Hiron F., Hughes E. D., Ingold C. K., Rao P. A. D., Nature, 166, 178 (1950).
250. Hinmann J. W., Caron E. L., Christensen H. N., J. Am. Chem. Soc., 72, 1620 (1950).
251. Fischer E., Ber., 38, 2914 (1905).
252. Fischer E., Luniak A., Ber., 42, 4752 (1909).
253. Rao K. R., Birnbaum S. M., Kingsley R. B., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 198, 507 (1952).
254. Robinson D. S., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 202, 1 (1953).
255. Greenstein J. P., Birnbaum S. M., Otey M. C., J. Biol. Chem., 204, 307 (1953).
256. Mohr E., Stroschein F., Ber., 42, 2521 (1909).
257. Greenstein J. P., Advances in Enzymol., 3, 117 (1948).

258. Plöchl J., Ber., 16, 2815 (1883).
259. Rebuffat O., Gazz. chim. ital., 19, 38 (1889).
260. Erlenmeyer E., Jr., Ber., 33, 2036 (1900); 35, 2483 (1902).
261. Carter H. E., Org. Reactions, 3, 198 (1946).
262. Erlenmeyer E., Jr., Halsey J. T., Ann., 307, 138 (1899).
263. Erlenmeyer E., Jr., Kunlin J., Ann., 316, 145 (1901).
264. Erlenmeyer E., Ann., 275, 1, 8 (1893).
265. Erlenmeyer E., Früstück E., Ann., 284, 36 (1895).
266. Erlenmeyer E., Ann., 307, 70 (1899).
267. Fischer H., Hofmann H. J., Z. physiol. Chem., 245, 139 (1936—1937).
268. Finar I. L., Libman D. D., J. Chem. Soc., 1949, 2726.
269. Baltazzi E., Robinson R., Chem. & Ind., 1954, 191.
270. Herbst R. M., Shemin D., Org. Syntheses, Coll. Vol. 2, 1 (1943).
271. Galat A., J. Am. Chem. Soc., 72, 4436 (1950).
272. Bergmann M., Stern F., Ann., 448, 20 (1926).
273. Carter H. E., Stevens C. M., J. Biol. Chem., 133, 117 (1940).
274. Carter H. E., Risser W. C., J. Biol. Chem., 139, 255 (1941).
275. Bain D., Perkin W. H., Robinson R., J. Chem. Soc., 105, 2392 (1914).
276. Gulland J. M., Virden C. J., J. Chem. Soc., 1928, 1478.
277. Bergmann M., Zervas L., Lebrecht F., Ber., 64, 2315 (1931).
278. Bettzieche F., Menger R., Z. physiol. Chem., 172, 56 (1927).
279. Carter H. E., Handler P., Melville D. B., J. Biol. Chem., 129, 359 (1939).
280. Bergmann M., Delis D., Ann., 458, 76 (1927).
281. Bergmann M., Schmitt V., Miekeley A., Z. physiol. Chem., 187, 264 (1930).
282. Dakin H. D., J. Biol. Chem., 82, 439 (1929).
283. Cornforth J. W., в книге The Chemistry of Penicillin, Princeton Univ. Press. 1949.
284. Mohr E., Geis T., Ber., 41, 798 (1908).
285. Mohr E., J. prakt. Chem., 80, 521 (1908).
286. Lettre H., Fernholz M. E., Z. physiol. Chem., 266, 37 (1940).
287. Bergmann M., Grafe K., Z. physiol. Chem., 187, 196 (1930).
288. Mohr E., J. prakt. Chem., 81, 49, 473 (1910).
289. Mohr E., J. prakt. Chem., 82, 60, 322 (1910).
290. Bergmann M., Zervas L., Z. physiol. Chem., 175, 154 (1928).
291. Carter H. E., Handler P., Stevens C. M., J. Biol. Chem., 138, 619 (1941).
292. Nicolet B. H., J. Am. Chem. Soc., 52, 1192 (1930).
293. Harington C. R., Overhoff J., Biochem. J., 27, 338 (1933).
293a. Barker C. C., Nature, 168, 908 (1951); J. Chem. Soc., 1953, 453; Swan J. M., Nature, 169, 826 (1952).
294. Karrer P., Widmer R., Helv. Chim. Acta, 8, 203 (1925).
295. Karrer P., Bussman G., Helv. Chim. Acta, 24, 645 (1941).
296. Bergmann M., Köster H., Z. physiol. Chem., 159, 179 (1926).
297. Bergmann M., Zervas L., Biochem. Z., 203, 280 (1928).
298. Greenstein J. P., Levintow L., Baker C. G., White J., J. Biol. Chem., 188, 647 (1951).
299. Marshall R., Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 4438 (1957).
300. du Vigneaud V., Sealock R. R., J. Biol. Chem., 96, 511 (1932).
301. du Vigneaud V., Meyer C. E., J. Biol. Chem., 98, 295 (1932).
302. du Vigneaud V., Meyer C. E., J. Biol. Chem., 99, 143 (1932—1933).
303. Bergmann M., Ensslin H., Zervas L., Ber., 58, 1034 (1925).

304. Price V. E., Levintow L., Greenstein J. P., Kingsley R. B., Arch. Biochem., 26, 92 (1950).
305. Robinson D. S., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 195, 383 (1952).
306. Johnson T. B., Scott W. M., J. Am. Chem. Soc., 35, 1136 (1913).
307. Csonka F. A., Nicolet B. H., J. Biol. Chem., 99, 213 (1932—1933).
308. Doherty D. G., Tietzman J. E., Bergmann M., J. Biol. Chem., 147, 617 (1943).
309. Bergmann M., Mickeley A., Z. physiol. Chem., 140, 128 (1924).
310. Bergmann M., Mickeley A., Kann E., Z. physiol. Chem., 146, 247 (1925).
311. Bergmann M., Mickeley A., Ann., 458. 40 (1927).
312. Bergmann M., Naturwiss., 51, 941 (1932).
313. Behrens O. K., Doherty D. G., Bergmann M., J. Biol. Chem., 136, 61 (1940).
314. Bergmann M., Behrens O. K., J. Biol. Chem., 124, 7 (1938).
315. Bergmann M., Grafe K., Z. physiol. Chem., 187, 187 (1930).
316. Shemin D., Herbst R. M., J. Am. Chem. Soc., 60, 1954 (1938).
317. Herbst R. M., J. Am. Chem. Soc., 61, 483 (1939).
318. Nicolet B. H., J. Am. Chem. Soc., 57, 1073 (1935).
319. Martell A. E., Herbst R. M., J. Org. Chem., 6, 878 (1941).
320. Shive W., Shive G. W., J. Am. Chem. Soc., 68, 117 (1946).
321. Bergmann M., Grafe K., Z. physiol. Chem., 187, 183 (1930).
322. Goncalves J. M., Greenstein J. P., Arch. Biochem., 16, 1 (1948).
323. Böttinger C., Ber., 14, 1599 (1881).
324. Price V. E., Errera M., Greenstein J. P., Arch. Biochem., 17, 51 (1948).
325. Fu S-C. J., Levintow L., Price V. E., Greenstein J. P., Arch. Biochem., 28, 440 (1950).
326. Greenstein J. P., Carter C. E., J. Natl. Cancer Inst., 7, 57 (1946).
327. Greenstein J. P., Price V. E., J. Biol. Chem., 175, 933 (1948).
328. Price V. E., Greenstein J. P., Arch. Biochem., 14, 249 (1947).
329. Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 171, 477 (1947); 173, 337 (1948); 175, 969 (1948).
330. Fodor P. J., Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 180, 193 (1949).
331. Meister A., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 195, 849 (1952).
332. Levintow L., Fu S-C. J., Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 184, 633 (1950).
333. Greenstein J. P., Price V. E., Leuthardt F. M., J. Biol. Chem., 175 953 (1948).
334. Fruton J. S., Bergmann M., J. Biol. Chem., 166, 449 (1946).
335. Herbst R. M., Advances in Enzymol., 4, 75 (1944).
336. Waters K. L., Hartung W. H., J. Org. Chem., 12, 469 (1947).
337. Weaver W. E., Hartung W. H., J. Org. Chem., 15, 741 (1950); Hartung W. H., Kramer D. N., Hager G. P., J. Am. Chem. Soc., 76, 2261 (1954); Shen L. M. C., Hartung W. H., J. Org. Chem., 23, 96 (1958).
338. Errera M., Greenstein J. P., J. Natl. Cancer Inst., 8, 39 (1947).
339. Errera M., Greenstein J. P., Arch. Biochem., 15, 445 (1947).
340. Fu S.-C. J., Price V. E., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 31, 83 (1951).
341. Fu S.-C. J., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 32, 365 (1951).
342. Carter C. E., Greenstein J. P., J. Natl. Cancer Inst., 7, 51 (1946).
343. Price V. E., Greenstein J. P., J. Natl. Cancer Inst., 7, 275 (1947).

344. Fruton J. S., Simmonds S., Smith V. A., J. Biol. Chem., 169, 267 (1947).
345. Price V. E., Greenstein J. P., Arch. Biochem., 18, 383 (1948).
346. Eiger I. Z., Greenstein J. P., Arch. Biochem., 19, 467 (1948).
347. Nicolet B. H., Science, 81, 181 (1935).
348. Fu S-C. J., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 77, 4412 (1955).
349. Nicolet B. H., J. Wash. Acad. Sci., 28, 84 (1938).
350. Goncalves J. M., Price V. E., Greenstein J. P., J. Natl. Cancer Inst., 7, 443 (1947).
351. Curtius T., Sieber W., Ber., 54, 1430 (1921); 55, 1543 (1922).
352. Wessely F., Sigmund F., Z. physiol. Chem., 157, 102 (1926).
353. Bailey J. L., Nature, 164, 889 (1949); J. Chem. Soc., 1950, 3461.
354. Leuchs H., Manasse W., Ber., 40, 3235 (1907).
355. Leuchs H., Geiger W., Ber., 41, 1721 (1908).
356. Katchalski E., Ben-Ishai D., J. Org. Chem., 15, 1067 (1950).
357. Ben-Ishai D., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 74, 3688 (1952).
358. Bergmann M., Zervas L., Ross W. F., J. Biol. Chem., 111, 245 (1935).
359. Hunt M., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 124, 699 (1938).
360. Go V., Tani H., Bull. Chem. Soc. Japan, 14, 510 (1939).
361. Hanby W. E., Waley S. G., Watson J., J. Chem. Soc., 1950, 3009.
362. Gish D. T., Carpenter F. H., J. Am. Chem. Soc., 75, 950 (1953).
363. Gish D. T., Carpenter F. H., J. Am. Chem. Soc., 75, 5872 (1953).
364. Berger A., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 73, 4084 (1951).
365. Berger A., Noguchi J., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 78, 4483 (1956).
366. Poduska K., Rudinger J., Sorm F., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 20, 1174 (1955).
367. Hanby W. E., Waley S. G., Watson J., J. Chem. Soc., 1950, 3239.
368. Becker R. R., Stahmann M. A., J. Biol. Chem., 204, 737 (1953).
369. Overell B. G., Petrow V., J. Chem. Soc., 1955, 232.
370. Patchornik A., Berger A., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 79, 5227 (1957).
371. Izumiya N., Fu S-C. J., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 205, 221 (1953).
372. Katchalski E., Spitnik K., J. Am. Chem. Soc., 73, 2946 (1951).
373. Synge R. L. M., Biochem. J., 42, 99 (1948).
374. Sela M., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 76, 129 (1954).
375. Berger A., Kurtz J., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 76, 5552 (1954).
376. Sigmund F., Wessely F., Z. physiol. Chem., 157, 91 (1926).
377. Frankel M., Halmann M., J. Chem. Soc., 1952, 2735.
378. Bergmann M., Zervas L., Salzmann L., Schleich H., Z physiol. Chem., 224, 17 (1934).
379. Katchalski E., Sela M., J. Am. Chem. Soc., 75, 5284 (1953).
380. Davis J. W., Ann. chim., 9, 399 (1954).
381. Jones H. W., Lundgren H. P., J. Am. Chem. Soc., 73, 5465 (1951).
382. Green M., Stahmann M. A., J. Biol. Chem., 197, 771 (1952).
383. Smith P. A. S., Org. Reactions, 3, 337 (1946).
384. Fuchs F., Ber., 55, 2943 (1922).
385. Levy A. L., Nature, 165, 152 (1950).
386. Farthing A. C., Reynolds R. J. W., Nature, 165, 647 (1950).
387. Farthing A. C., J. Chem. Soc., 1950, 3213.
388. Schlögl K., Fabitschowitz H., Monatsh. Chem., 85, 1061 (1954).

389. Coleman D. W., J. Chem. Soc., 1951, 2294.
390. Hooper K. C., Rydon H. N., Schofield J. A., Heaton G. S., J. Chem. Soc., 1956, 3148.
390a. Kurtz J., Fasman G. D., Berger A., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 80, 393 (1958).
391. Coleman D., J. Chem. Soc., 1950, 3222.
392. Hopple K. D., Katz J. J., J. Am. Chem. Soc., 78, 6199 (1956).
393. Roeske R., Steward F. H. C., Stedman R. J., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 78, 5883 (1956).
394. Petri E. M., Stavermann A. J., Rec. trav. chim., 71, 385 (1952).
395. Schlögl K., Wessely F., Korger G., Monatsh. Chem., 83, 845 (1952).
396. MacDonald R. N., Tullock C. W., пат. США 2630423 (1953).
397. Frankel M., Cordova S., Breuer M., J. Chem. Soc., 1953, 1991.
398. Okawa K., Tani K., J. Chem. Soc. Japan, 75, 1199 (1954).
399. Patchornik A., Sela M., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 76, 299 (1954).
400. Honzl J., Rudinger J., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 20, 1190 (1955).
401. Siegfried M., Z. physiol. Chem., 44, 85 (1905); 46, 401 (1906); 54, 436 (1908).
402. Neuberg C., Kerb J., Biochem. Z., 40, 498 (1912).
403. Frankel M., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 65, 1670 (1943).
404. Faurholt C., J. chim. phys., 22, 1 (1925).
405. Meldrum N. U., Roughton F. J. W., J. physiol., 80, 143 (1933).
406. Stadie W. C., O'Brien H., J. Biol. Chem., 112, 723 (1936); 117, 439 (1937).
407. Miller E., Fankuchen I., Mark H., J. Appl. Phys., 20, 531 (1949).
408. Katchalski E., Grossfeld I., Frankel M., J. Am. Chem. Soc., 70, 2094 (1948).
409. Hanby W. E., Waley S. G., Watson J., Nature, 161, 132 (1948).
409a. Ballard D. G. H., Bamford C. H., Weymouth F. J., Proc. Roy. Soc. (London), A227, 155 (1954).
410. Cook A. H., Heilbron I., Levy A. L., J. Chem. Soc., 1948, 201.
411. Cook A. H., Levy A. L., J. Chem. Soc., 1950, 642.
412. Davis A. C., Levy A. L., J. Chem. Soc., 1951, 2419.
413. Hofmann K., Lindenmann A., Magee M. Z., Khan N. H., J. Am. Chem. Soc., 74, 470 (1952).
414. Billimoria J. D., Cook A. H., J. Chem. Soc., 1949, 2323.
415. Cook A. H., Levy A. L., J. Chem. Soc., 1950, 646.
416. Cook A. H., Levy A. L., J. Chem. Soc., 1950, 651.
417. Cook A. H., Levy A. L., J. Chem. Soc., 1950, 637.
418. Aubert P., Jeffreys R. A., Knott E. B., J. Chem. Soc., 1951, 2195.
419. Aubert P., Knott E. B., Williams L. A., J. Chem. Soc., 1951, 2185.
420. Fischer E., Lipschitz W., Ber., 48, 360 (1915).
421. Harris J. I., Work T. S., Biochem. J., 46, 582 (1950).
422. Bergmann M., Fruton J. S., Pollok H., J. Biol. Chem., 127, 643 (1939).
423. Erlanger B. F., Sachs H., Brand E., J. Am. Chem. Soc., 76, 1806 (1954).
424. Gibson C. S., Simonsen J. L., J. Chem. Soc., 107, 798 (1915).
425. McChesney E. W., Swann W. K., J. Am. Chem. Soc., 59, 1116 (1937).
426. Holley R. W., Holley A. D., J. Am. Chem. Soc., 71, 2129 (1949).
427. Beecham A. F., J. Am. Chem. Soc., 79, 3257 (1957).
428. Fichter F., Schmid M., Helv. Chim. Acta, 3, 711 (1920).
429. Barrass B. C., Elmore D. T., J. Chem. Soc., 1957, 3134.
430. Oseki T., J. Tokyo Chem. Soc., 41, 8 (1920).
431. Freudenberg K., Noë A., Ber., 58, 2399 (1925).

432. du Vigneaud V., Bartlett M. F., Jöhl A., J. Am. Chem. Soc., 79, 5572 (1957).
432a. Maclaren J. A., Savige W. E., Swan J. M., Australian J. Chem., 11, 345 (1958).
433. Rudinger J., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 19, 386 (1954).
434. Harington C. R., Moggridge R. C. G., J. Chem. Soc., 1940, 706.
435. Swan J. M., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 76, 3110 (1954).
436. Rudinger J., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 19, 365 (1954).
437. Fischer E., Bergmann M., Ann., 398, 96 (1913).
438. Katsoyannis P. G., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 76, 3113 (1954).
439. Theodoropoulos D., Craig L. C., J. Org. Chem., 21, 1376 (1956).
439a. Swallow D. L., Lockhart I. M., Abraham E. P., Biochem. J., 70, 359 (1958).
439б. Barrass B. C., Elmore D. T., J. Chem. Soc., 1957, 4830.
440. Popenoe E. A., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 76, 6202 (1954).
441. Kapfhammer J., Eck R., Z. physiol. Chem., 170, 294 (1927).
442. Izumiya N., Bull. Chem. Soc., Japan, 26, 53 (1953).
443. Pravda Z., Rudinger J., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 20, 1 (1955).
444. Hofmann K., Jöhl A., Furlenmeier A. E., Kappler H., J. Am. Chem. Soc., 79, 1636 (1957).
445. Brenner M., Rüfenacht K., Sailer E., Helv. Chim. Acta, 34, 2102 (1951).
446. Katsoyannis P. G., Gish D. T., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 79, 4516 (1957).
447. Bergell P., Z. physiol. Chem., 104, 182 (1919).
448. Knoop F., Oesterlin H., Z. physiol. Chem., 170, 186 (1927).
449. Rosenmund K. W., Zetzsche F., Ber., 54, 2038 (1921).
450. Freudenberg K., Dürr W., Hochstetter H. von, Ber., 61, 1735 (1928).
451. Fischer H. O. L., Baer E., Ber., 65, 337, 345 (1932).
452. du Vigneaud V., Meyer C. E., J. Biol. Chem., 98, 295 (1932).
453. Cahill W. M., Burton I. F., J. Biol. Chem., 132, 161 (1940).
454. Winitz M., Bloch-Frankenthal L., Izumiya N., Birnbaum S. M., Baker C. G., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 78, 2423 (1956).
455. Bergmann M., Zervas L., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 115, 593 (1936).
456. Theodoropoulos D., Craig L. C., J. Org. Chem., 20, 1169 (1955).
457. Neuberger A., Sanger F., Biochem. J., 37, 515 (1943).
458. Zervas L., Winitz M., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 65, 573 (1956).
459. Zervas L., Winitz M., Greenstein J. P., J. Org. Chem., 22, 1515 (1957).
460. Stevens C. M., Watanabe R., J. Am. Chem. Soc., 72, 725 (1950).
461. Channing D. M., Turner P. B., Young G. T., Nature, 167, 487 (1951).
462. Carpenter F. H., Gish D. T., J. Am. Chem. Soc., 74, 3818 (1952).
463. Gish D. T., Carpenter F. H., J. Am. Chem. Soc., 75, 5872 (1953).
464. McKay F. C., Albertson N. F., J. Am. Chem. Soc., 79, 4686 (1957).
465. Anderson G. W., McGregor A. C., J. Am. Chem. Soc., 79, 6180 (1957).
466. Bergmann M., Zervas L., Fruton J. S., Schneider F., Schleich H., J. Biol. Chem., 109, 325 (1935).
467. Polglase W. J., Smith E. L., J. Am. Chem. Soc., 71, 3081 (1949).
468. Fu S-C. J., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 76, 6054 (1954).

469. Smith C. S., Brown A. E., J. Am. Chem. Soc., 63, 2605 (1941).
470. Greenstein J. P., Izumiya N., Winitz M., Birnbaum S. M., J. Am. Chem. Soc., 77, 707 (1955).
471. Anderson G. W., J. Am. Chem. Soc., 75, 6081 (1953).
471a. Guttmann S., Boissonnas R. A., Helv. Chim. Acta, 41, 1852 (1958); Boissonnas R. A., Guttmann S., Huguenin R. L., Jaquenoud P. A., Sandrin E., ibid., 41, 1867 (1958).
472. Boissonnas R. A., Guttmann S., Jaquenoud P. A., Waller J. P., Helv. Chim. Acta, 38, 1491 (1955).
473. Izumiya N., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 52, 203 (1954).
474. Harington C. R., Mead T. H., Biochem. J., 30, 1598 (1936).
475. Goldschmidt S., Jutz C., Chem. Ber., 86, 1116 (1953).
476. King L. C., Suydam F. H., J. Am. Chem. Soc., 74, 5499 (1952).
477. Weygand F., Geiger R., Chem. Ber., 90, 634 (1957).
478. Wade R., Birnbaum S. M., Winitz M., Koegel R. J., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 648 (1957).
479. Fruton J. S., Irving G. W., Bergmann M., J. Biol. Chem., 133, 703 (1940).
480. Levintow L., Greenstein J. P., Kingsley R. B., Arch. Biochem. Biophys., 31, 77 (1951).
481. Wieland T., Weidenmüller H. J., Ann., 597, 111 (1955).
482. Miller H. K., Waelsch H., Arch. Biochem. Biophys., 35, 176 (1952).
482a. Katsoyannis P. G., Gish D. T., Hess G. P., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 80, 2558 (1958).
483. Patchornik A., Berger A., Katchalski E., J. Am. Chem. Soc., 79, 6416 (1957).
484. Theodoropoulos D., J. Org. Chem., 21, 1550 (1956).
485. Benoiton L., Winitz M., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 79, 6192 (1957).
486. Grassmann W., Wünsch E., Chem. Ber., 91, 449, 462 (1958); Grassmann W., Wünsch E., Riedel A., ibid., 91, 455 (1958).
487. Patchett A. A., Witkop B., J. Am. Chem. Soc., 79, 185 (1957); Witkop B., Foltz C. M., ibid., 79, 192 (1957).
488. Fox S. W., Fling M., Wax H., Pettinga C. W., J. Am. Chem. Soc., 72, 1862 (1950).
489. Dekker C. A., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 173, 471 (1948).
490. Brenner M., Pfister R. W., Helv. Chim. Acta, 34, 2085 (1951).
491. Hofmann K., Peckham W. D., Rheiner A., J. Am. Chem. Soc., 78, 238 (1956).
492. Bergmann M., Zervas L., Rinke H., Z. physiol. Chem., 224, 40 (1934).
493. Bergmann M., Zervas L., Rinke H., Schleich H., Z. physiol. Chem., 224, 33 (1934).
494. Holley R. W., Holley A. D., J. Am. Chem. Soc., 74, 1110, 3069 (1952).
495. Clayton D. W., Farrington J. A., Kenner G. W., Turner J. M., J. Chem. Soc., 1957, 1398.
496. Zaoral M., Chem. Listy, 48, 1583 (1954).
497. Skinner C. G., McCord T. J., Ravel J. M., Shive W., J. Am. Chem. Soc., 78, 2412 (1956).
498. Riley G., Turnbull J. H., Wilson W., J. Chem. Soc., 1957, 1373.
499. Baer E., Maurukas J., J. Biol. Chem., 212, 25 (1955).
500. Nicolaides E. D., Westland R. D., Wittle E. L., J. Am. Chem. Soc., 76, 2887 (1954).
501. Fruton J. S., J. Biol. Chem., 146, 463 (1942).

502. Moore J. A., Dice J. R., Nicolaides E. D., Westland R. D., Wittle E. L., J. Am. Chem. Soc., 76, 2884 (1954).
503. Levene P. A., Schormüller A., J. Biol. Chem., 105, 547 (1934); 106, 595 (1934).
504. Okawa K., Bull. Chem. Soc., Japan, 29, 488 (1956).
504a. Merrifield R. B., J. Biol. Chem., 232, 43 (1958).
505. Smith E. L., J. Biol. Chem., 175, 39 (1948).
506. Kuhn R., Ruelius H. W., Chem. Ber., 85, 38 (1952).
507. Vaughan J. R., Eichler J. A., J. Am. Chem. Soc., 75, 5556 (1953).
508. Schwarz H., Bumpus F. M., Page I. H., J. Am. Chem. Soc., 79, 5697 (1957).
509. Chambers R. W., Carpenter F. H., J. Am. Chem. Soc., 77, 1522 (1955).
510. du Vigneaud V., Gish D. T., Katsoyannis P. G., J. Am. Chem. Soc., 76, 4751 (1954).
511. Gish D. T., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 79, 3579 (1957).
512. Berse C., Boucher R., Piche L., J. Org. Chem., 22, 805 (1957).
513. Berse C., Piche L., J. Org. Chem., 21. 808 (1956).
514. Boissonnas R. A., Preitner G., Helv. Chim. Acta, 36, 875 (1953).
514a. Schwyzer R., Sieber P., Zatsko K., Helv. Chim. Acta, 41, 491 (1958).
515. Radenhausen R., J. prakt. Chem., 52, 446 (1895).
516. Ing H. R., Manske R. H., J. Chem. Soc., 1926, 2348.
517. Kidd D. A., King F. E., Nature, 162, 776 (1948).
518. Sheehan J. C., Frank V. S., J. Am. Chem. Soc., 71, 1856 (1949).
519. Reese L., Ann., 242, 1 (1887).
520. Fling M., Minard F. N., Fox S. W., J. Am. Chem. Soc., 69, 2466 (1947).
521. Billman J. H., Harting W. F., J. Am. Chem. Soc., 70, 1473 (1948).
522. Sheehan J. C., Chapman D. W., Roth R. W., J. Am. Chem. Soc., 74, 3822 (1952).
523. Tipson R. S., J. Org. Chem., 21, 1353 (1956).
524. Sheehan J. C., Goodman M., Hess G. P., J. Am. Chem. Soc., 78, 1367 (1956).
525. Wanag G., Veinbergs A., Ber., 75, 1558 (1942).
526. O'Neill J. J., Veitch F. P., Wagner-Jauregg T., J. Org. Chem., 21, 363 (1956).
527. King F. E., Kidd D. A. A., J. Chem. Soc., 1949, 3315.
528. Balenović K., Gaspert B., Stimac N., Croat. Chem. Acta, 29, 93 (1957).
529. Gabriel S., Ber., 38, 634 (1905); 44, 59 (1911).
530. Fischer E., Ber., 40, 489 (1907).
531. McKenzie A., Barrow F., J. Chem. Soc., 103, 1331 (1913).
532. Hildescheimer A., Ber., 43, 2796 (1910).
533. King F. E., Clark-Lewis J. W., Wade R., J. Chem. Soc., 1957, 886.
534. Fischer E., Ber., 34, 2900 (1901).
535. Hanson H., Illhardt R., Z. physiol. Chem., 298, 210 (1954).
536. King F. E., Ckark-Lewis J. W., Wade R., Swindin W. A., J. Chem. Soc., 1957, 873.
537. Fischer R. F., Whetstone R. R., J. Am. Chem. Soc., 76, 5076 (1954).
538. Keil W., Z. physiol. Chem., 208, 67 (1932).
539. Freytog P., Ber., 48, 648 (1915).
540. Ulrich A., Ber., 37, 1685 (1904).
541. Van Orden H., Smith E. L., J. Biol. Chem., 208, 751 (1954).
542. Fles D., Balenović B., J. Am. Chem. Soc., 78, 3072 (1956).
543. Minard F. N., Fox S. W., J. Am. Chem. Soc., 71, 1160 (1949).

543a. Shankman S., Schvo Y., J. Am. Chem. Soc., 80, 1164 (1958).
544. Schumann I., Boissonnas R. A., Helv. Chim. Acta, 35, 2237 (1952).
545. Helferich B., Moog L., Jünger A., Ber., 58, 872 (1925).
546. Hillmann-Elies A., Hillmann G., Jatzkewitz H., Z. Naturforsch., 8b, 445 (1953).
547. Amiard G., Heymes R., Velluz L., Bull. soc. chim.,1955, 191.
548. Zervas L., Theodoropoulos D. M., J. Am. Chem. Soc., 78, 1359 (1956).
548a. Stelakatos G. C., Theodoropoulos D. M., Zervas L., частное сообщение.
549. Amiard G., Heymes R., Velluz L., Bull. soc. chim., 1956, 698.
550. Amiard G., Goffinet B., Bull. soc. chim., 1957, 1133.
551. Velluz L., Amiard G., Heymes R., Bull. soc. chim., 1954, 1012.
552. Velluz L., Anatol J., Amiard G., Bull. soc. chim., 1954, 1449.
553. Velluz L., Amiard G., Heymes R., Bull. soc. chim., 1955, 201.
554. Anatol J., Torelli V., Bull. soc. chim., 1954, 1446.
555. Liwschitz Y., Zilkha A., J. Am. Chem. Soc., 76, 3698 (1954).
556. Frankel M., Liwschitz Y., Amiel Y., J. Am. Chem. Soc., 75, 330 (1953).
557. Liwschitz Y., Zilkha A., Amiel Y., J. Am. Chem. Soc., 78, 3067 (1956).
558. Zilkha A., Liwschitz Y., J. Chem. Soc., 1957, 4397.
559. Kanao S., J. Pharm. Soc., Japan, 66, 6 (1944).
560. Mannich C., Kuphal R., Ber., 45, 314 (1912).
561. Гаврилов Н., Коперина А. В., Клутчарова М., Bull. soc. chim., 1945, 773.
562. Scheibler H., Baumgarten P., Ber., 55, 1358 (1922).
563. Fischer E., Michel L., Ber., 49, 1355 (1916).
564. Birkhofer L., Ber., 75, 429 (1942).
565. Velluz L., Amiard G., Heymes R., Bull. soc. chim., 1955, 1283.
566. Swarts F., Bull. Acad. roy. Belgique, Classe des sciences, [5] 8, 343 (1922); Chem. Zentr., 1, 66 (1923).
567. Weygand F., Csendes E., Angew. Chem., 64, 136 (1952).
568. Weygand F., Leising E., Chem. Ber., 87, 248 (1954).
569. Schallenberg E. F., Calvin M., J. Am. Chem. Soc., 77, 2779 (1955).
570. Weygand F., Geiger R., Chem. Ber., 89, 647 (1956).
571. Weygand F., Glöckler U., Chem. Ber., 89, 653 (1956).
572. Fones W. S., J. Org. Chem., 17, 1661 (1952).
573. Weygand F., Reiher M., Chem. Ber., 88, 26 (1955).
574. Fones W. S., Lee M., J. Biol. Chem., 210, 227 (1954).
575. Hauptschein M., Stokes C. S., Nodiff E. A., J. Am. Chem. Soc., 74, 4005 (1952).
576. Weygand F., Klinke P., Eigen I., Chem. Ber., 90, 1896 (1957).
577. Shine H. J., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 74, 97 (1952).
578. Ehrensvärd G. C. H., Nature, 159, 500 (1947).
579. Lindenmann A., Khan N. H., Hofmann K., J. Am. Chem. Soc., 74, 476 (1952).
580. Kollonitsch J., Gabor V., Hajos A., Nature, 177, 841 (1956); Chem. Ber., 89, 2288 (1956).
581. Rivier H., Bull. soc. chim., [4] 1, 733 (1907).
582. Schuller W. H., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 75, 3425 (1953).
583. Crosby D. G., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 76, 4458 (1954).
584. Waley S. G., Chem. & Ind., 1953, 107; Zehra A., Ber., 23, 3625 (1890).
584a. Waley S. G., Watson J., Biochem. J., 57, 529 (1954).

585. King F. E., Clark-Lewis J. W., Kidd D. A., Smith G. R., J. Chem. Soc., 1954, 1039.
586. Sheehan J. C., Yang D-D. H., J. Am. Chem. Soc., 80, 1154 (1958).
587. Fodor P. J., Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 182, 467 (1950); Biilmann E., Jensen K. A., Jensen H. B., Bull. soc. chim., [5] 1, 1661 (1934).
588. Micheel F., Krzeminski Z., Himmelman W., Kühlkamp A., Ann., 575, 90 (1952).
589. Cherbuliez E., Chambers I. F., Helv. Chim. Acta, 8, 395 (1925).
590. Fruton J. S., Clarke H. T., J. Biol. Chem., 106, 667 (1934); du Vigneaud V., Dorfmann R., Loring H. S., ibid., 98, 577 (1932).
591. Borek B. A., Waelsch H., J. Biol. Chem., 205, 459 (1953).
592. Tabor H., Mehler A. H., J. Biol. Chem., 210, 559 (1954).
593. Fischer E., Warburg O., Ber., 38, 3997 (1905).
594. Abderhalden E., Weil A., Z. physiol. Chem., 77, 435 (1912).
595. Locquin R., Bull. Soc. chim., [4] 1, 598 (1907).
596. Windus W., Marvel C. S., J. Am. Chem. Soc., 53, 3490 (1931).
597. Dalgleish C. E., J. Chem. Soc., 1952, 137.
598. Abderhalden E., Sickel H., Z. physiol. Chem., 131, 277 (1923).
599. Izumiya N., Nagamatsu A., Bull. Chem. Soc. Japan, 25, 265 (1952).
600. Fischer E., Ber., 39, 2320 (1906).
601. Milne H. B., Peng C-H., J. Am. Chem. Soc., 79, 639 (1957).
602. Bergmann M., Zervas L., Salzmann L., Ber., 66, 1288 (1933).
603. Curtius T., Goebel F., J. prakt. Chem. (2), 37, 150 (1888).
604. Bergmann M., Zervas L., Z. physiol. Chem., 221, 51 (1933).
605. Rowlands D. A., Young G. T., J. Chem. Soc., 1952, 3937.
606. Hegedüs B., Helv. Chim. Acta, 31, 737 (1948).
607. King F. E., Jackson B. S., Kidd D. A. A., J. Chem. Soc., 1951, 243.
608. King F. E., Spensley P. C., J. Chem. Soc., 1950, 3159.
609. Le Quesne W. J., Young G. T., J. Chem. Soc., 1952, 24.
610. Le Quesne W. J., Young G. T., J. Chem. Soc., 1950, 1954.
611. Barker A. L., Skinner G. S., J. Am. Chem. Soc., 46, 403 (1925).
611a. Grassmann W., Wünsch E., Riedel A., Chem. Ber., 455 (1958).
612. Smith E. L., Polglase W. J., J. Biol. Chem., 180, 1209 (1949).
613. Greenstein J. P., Winitz M., Gullino P., Birnbaum S. M., Otey M. C., Arch. Biochem. Biophys., 64, 342 (1956).
613a. Grassmann W., Wünsch E., Chem. Ber., 91, 449 (1958).
614. Piutti A., Magli G., Gazz. chim. ital., 36, II, 740 (1906).
615. Sullivan M. X., Hess W. L., Howard H. W., J. Washington Acad. Sci., 32, 285 (1942).
616. Levintow L., Price V. E., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 184, 55 (1950).
617. Abderhalden E., Wybert E., Ber., 49, 2449 (1916).
618. Hillmann G., Z. Naturforsch., 1, 682 (1946).
619. Sondheimer E., Holley R. W., J. Am. Chem. Soc., 76, 2816 (1954).
620. Pauly H., Z. physiol. Chem., 42, 508 (1904).
621. Davis N. C., J. Biol. Chem., 223, 935 (1956).
622. Smith E. L., Spackman D. H., Polglase W. J., J. Biol. Chem., 199, 801 (1952).
623. Ressler C., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 79, 4511 (1957).
624. Weil K., Kuhn W., Helv. Chim. Acta, 29, 784 (1946).
625. Nyman M. A., Herbst R. M., J. Org. Chem., 15, 108 (1950).
626. Bergmann M., Zervas L., Greenstein J. P., Ber., 65, 1692 (1932).

626a. Schwyzer R., Sieber P., Helv. Chim. Acta, 41, 1582 (1958).
627. Dekker C. A., Taylor S. P., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 180, 155 (1949).
628. Curtius T., Müller E., Ber., 37, 1261 (1904).
629. Boissonnas R. A., Guttmann S., Jaquenoud P. A., Waller J. P., Helv. Chim. Acta, 39, 1421 (1956).
630. Mattocks A. M., Hartung W. H., J. Biol. Chem., 165, 501 (1946).
631. Harris J. I., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 191, 143 (1951).
632. Dunn F. W., J. Biol. Chem., 227, 575 (1957).
633. Kinoshita M., Umezawa S., J. Chem. Soc. Japan, 72, 382 (1951).
634. Holland D. O., Nayler J. H. C., J. Chem. Soc., 1953, 285.
635. Brenner M., Sailer E., Kocher V., Helv. Chim. Acta, 31, 1908 (1948).
636. Abderhalden E., Kempe M., Z. physiol. Chem., 52, 207 (1907).
637. Barkdoll A. E., Ross W. F., J. Am. Chem. Soc., 66, 951 (1944).
638. Fox S. W., Minard F. N., J. Am. Chem. Soc., 74, 2085 (1952).
638a. Schwyzer R., Iselin B., Kappeler H., Riniker B., Rittel W., Zuber H., Helv. Chim. Acta, 41, 1273 (1958).
639. Johnson T. B., Ticknor A. A., J. Am. Chem. Soc., 40, 636 (1918).
640. Piutti A., Gazz. chim. ital., 18, 457 (1888).
641. Wegscheider R., Monatsh. Chem., 37, 219 (1916).
642. Neuman R. E., Smith E. L., J. Biol. Chem., 193, 97 (1951).
643. Curtius T., Koch H., J. prakt. Chem., [2] 38, 473 (1888).
644. Koch R., Hanson H., Z. physiol. Chem., 292, 180 (1953).
645. Cherbuliez E., Plattner P., Helv. Chim. Acta, 12, 317 (1929).
646. Harington C. R., Pitt Rivers R. V., Biochem. J., 38, 417 (1944).
647. Sakakibara S., Tani H., Bull. Chem. Soc. Japan, 29, 85 (1956).
648. Angier R. B., Waller C. W., Hutchings B. L., Boothe J. H., Mowat J. H., Semb J., Subba Row Y., J. Am. Chem. Soc., 72, 74 (1950).
649. Prelog V., Wieland P., Helv. Chim. Acta, 29, 1128 (1946).
650. Chiles H. M., Noyes W. A., J. Am. Chem. Soc., 44, 1798 (1922).
651. Friedman O. M., Seligman A. M., J. Am. Chem. Soc., 76, 658 (1954).
652. Marvel C. S., Org. Syntheses, 14, 46 (1934).
653. Röhman F., Ber., 30, 1978 (1897).
654. Flěs D., Markovac-Prpic A., Croat. Chem. Acta, 29, 79 (1957).
655. Akabori S., Kanekò T., Bull. Chem. Soc. Japan, 11, 208 (1936).
656. Werbin H., Palm A., J. Am. Chem. Soc., 73, 1382 (1951).
657. Adams E., Davis N. C., Smith E. L., J. Biol. Chem., 208, 573 (1954).
658. Spies J. R., J. Am. Chem. Soc., 70, 3717 (1948).
659. Berg C. P., Rose W. C., Marvel C. S., J. Biol. Chem., 85, 207 (1929—1930).
660. Izumiya N., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 218, 59 (1956).
661. Hashizume T., J. Agr. Chem. Soc. Japan, 25, 25 (1951).
662. Sachs H., Brand E., J. Am. Chem. Soc., 75, 4610 (1953).
663. Ruggli R., Ratti R., Henzi E., Helv. Chim. Acta, 12, 361 (1928).
664. Ben-Ishai D., Berger A., J. Org. Chem., 17, 1564 (1952).
665. Ben-Ishai D., J. Org. Chem., 19, 62 (1954).
666. Erlanger B. F., Brand E., J. Am. Chem. Soc., 73, 3508 (1951).
667. Erlanger B. F., Brand E., J. Am. Chem. Soc., 73, 4025 (1951).
668. Erlanger B. F., Hall R. M., J. Am. Chem. Soc., 76, 5781 (1954).
669. Miller H. K., Waelsch H., J. Am. Chem. Soc., 74, 1092 (1952).
670. Cipera J. D., Nicholls R. V. V., Chem. & Ind., 1955, 16.
671. Kollonitsch J., Vita J., Nature, 178, 1307 (1956).
672. Miller A., Neidle A., Waelsch H., Arch. Biochem. Biophys., 56, 11 (1955).

673. Velluz L., Amiard J., Bartos G., Goffinet B., Heymes R., Bull. soc. chim., 1956, 1464.
674. Leach S. J., Lindley H., Australian J. Chem., 7, 173 (1954).
675. Amiard G., Heymes R., Velluz L., Bull. soc. chim., 1956, 97.
676. Clayton D. W., Kenner G. W., Sheppard R. C., J. Chem. Soc., 1956, 371.
677. Helferich B., Schellenberg P., Ulbrich J., Chem. Ber., 90, 700 (1957).
678. Zahn H., Diehl J. F., Angew. Chem., 69, 135 (1957); Z. Naturforsch., 12b, 85 (1957).
679. Bruckner V., Szekerke M., Kovacs J., Z. physiol. Chem., 309, 25 (1957).
679a. Erlanger B. F., Curran W. V., Kokowsky N., J. Am. Chem. Soc., 80, 1128 (1958).
680. Izumiya N., Makisumi S., J. Chem. Soc. Japan., 78, 662 (1957).
681. North M. B., Young G. T., Chem. & Ind., 1955, 1597.
682. Vaughan J. R., J. Am. Chem. Soc., 74, 6137 (1952).
682a. Weygand F., Hunger K., Naturwiss., 13b, 50 (1958).
683. Sondheimer E., Holley R. W., J. Am. Chem. Soc., 76, 2467 (1954).
684. Fox S. W., Wax H., J. Am. Chem. Soc., 73, 2936 (1951).
685. King F. E., Clark-Lewis J. W., Smith G. R., J. Chem. Soc., 1954, 1046.
686. Stedman R. J., J. Am. Chem. Soc., 79, 4691 (1951).
687. Brenner M., Sailer E., Rüfenacht K., Helv. Chim. Acta, 34, 2096 (1951).
688. Karrer P., van der Sluys Veer F. C., Helv. Chim. Acta, 15, 746 (1932).
689. Taurog A., Abraham S., Chaikoff I. L., J. Am. Chem. Soc., 75, 3473 (1953).
690. Sifferd R. H., duVigneaud V., J. Biol. Chem., 108, 753 (1935).
691. Le Quesne W. J., Young G. T., J. Chem. Soc., 1950, 1959.
692. Fodor P. J., Miller A., Neidle A., Waelsch H., J. Biol. Chem., 203, 991 (1953).
693. Le Quesne W. J., Young G. T., Nature, 163, 604 (1949).
694. Simmonds S., Harris J. I., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 188, 251 (1951).
695. Holley R. W., Sondheimer E., J. Am. Chem. Soc., 76, 1326 (1954).
696. Fruton J. S., J. Am. Chem. Soc., 70, 1280 (1948).
697. Anderson G. W., Young R. W., J. Am. Chem. Soc., 74, 5307 (1952).
698. Harris J. I., Work T. S., Biochem. J., 46, 196 (1950).
699. Baer E., Maurukas J., Clarke D. D., Can. J. Chem., 34, 1182 (1956).
700. Bergmann M., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 118, 405 (1937).
701. Swan J. M., Proc. International Wool Research Textile Conf. (Australia), C-175 (1955).
702. Woolley D. W., J. Biol. Chem., 172, 71 (1948).
703. Brand E., Erlanger B. F., Sachs H., Polatnick J., J. Am. Chem. Soc., 73, 3510 (1951).
704. Zahn H., Schnabel E., Ann., 604, 62 (1957).
705. Bergmann M., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 117, 189 (1937).
706. Brand E., Erlanger B. F., Polatnick J., Sachs H., Kirschenbaum D., J. Am. Chem. Soc., 73, 4027 (1957).
707. Roberts C. W., J. Am. Chem. Soc., 76, 6203 (1954).
708. Boissonnas R. A., Guttmann S., Jaquenoud P. A., Waller J P., Konzett H., Berde B., Nature, 178, 260 (1956).

709. Fruton J. S., Bergmann M., Anslow W. P., J. Biol. Chem., 127, 627 (1939).
710. Bergmann M., Zervas L., J. Biol. Chem., 113, 341 (1936).
711. Lautsch W., Kraege H-J., Chem. Ber., 89, 737 (1956).
712. Kenner G. W., Stedman R. J., J. Chem. Soc., 1952, 2069.
713. Hofmann K., Kappeler H., Furlenmeier A. E., Woolner M. E., Schwartz E. T., Thompson T. A., J. Am. Chem. Soc., 79, 1641 (1957).
714. Rittel W., Iselin B., Kappeler H., Riniker B., Schwyzer R., Helv. Chim. Acta, 40, 614 (1957).
715. Waley S. G., Watson J., J. Chem. Soc., 1953, 475.
716. du Vigneaud V., Ressler C., Swan J. M., Roberts C. W., Katsoyannis P. G., Gordon S., J. Am. Chem. Soc., 75, 4879 (1953).
717. Zaoral M., Rudinger J., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 20, 1183 (1955).
717a. Schnabel E., Zahn H., Ann., 614, 141 (1958).
718. Merrifield R. B., Woolley D. W., J. Am. Chem. Soc., 78, 4646 (1956).
718a. Schwyzer R., Iselin B., Kappeler H., Riniker B., Rittel W., Zuber H., Helv. Chim. Acta, 41, 1287 (1958).
719. Schwyzer R., Sieber P., Helv. Chim. Acta, 40, 624 (1957).
720. Smith G. R., докторская диссертация, Nottingham University, Nottingham, England, 1953.
721. Vaughan J. R., Osato R. L., J. Am. Chem. Soc., 74, 676 (1952).
722. Anderson G. W., Blodinger J., Welcher A. D., J. Am. Chem. Soc., 74, 5309 (1952).
723. Goldschmidt S., Lautenschlager H., Ann., 580, 68 (1953).
724. Sachs H., Brand E., J. Am. Chem. Soc., 76, 1815 (1954).
725. Hofmann K., Magee M. Z., Lindenmann A., J. Am. Chem. Soc., 72, 2814 (1950).
725a. Hofmann K., Magee M. Z., J. Am. Chem. Soc., 71, 1515 (1949).
725б. Sheehan J. C., Goodman M., Richardson W. L., J. Am. Chem. Soc., 77, 6391 (1955); Bamford C. H., Weymouth F. J., ibid., 77, 6368 (1955).
726. Grassmann W., Schneider W., Biochem. Z., 273, 452 (1934).
727. Miller G. L., Behrens O. K., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 140, 411 (1941).
728. Gabriel S., Ber., 40, 2647 (1907).
729. Kraut K., Hartmann F., Ann., 133, 99 (1865).
730. Curtius T., J. prakt. Chem., 24, 239 (1881).
731. Wieland T., Sehring R., Ann., 569, 122 (1950).
732. Wieland T., Kern W., Sehring R., Ann., 569, 117 (1950).
733. Emery A. R., Gold V., J. Chem. Soc., 1950, 1443, 1447, 1455.
734. Vaughan J. R., Osato R. L., J. Am. Chem. Soc., 73, 5553 (1951).
735. Baker W., Ollis W. D., Poole V. D., J. Chem. Soc., 1950, 1542.
736. Jackson R. W., Cahill W. M., J. Biol. Chem., 126, 37 (1938).
737. Steiger R. E., Helv. Chim. Acta, 17, 555 (1934).
738. Carter H. E., Stevens C. M., J. Biol. Chem., 138, 627 (1941).
739. Neuberger A., Advances in Protein Chem., 4, 297 (1948).
740. Boissonnas R. A., Helv. Chim. Acta, 34, 874 (1951).
741. Wieland T., Bernhard H., Ann., 572, 190 (1951).
742. Wieland T., Stimming D., Ann., 579, 97 (1953).
742a. Kopple K. D., Renick R. J., J. Org. Chem., 23, 1565 (1958).
743. Borsook H., Dubnoff J. W., J. Biol. Chem., 132, 307 (1940).

744. Lipmann F., Advances in Enzymol., 1, 99 (1941); Federation Proc., 8, 597 (1949).
745. Warburg O., Christian W., Biochem. Z., 303, 40 (1939).
746. Cohen P. P., McGilvery R. W., J. Biol. Chem., 166, 261 (1946); 169, 119 (1947); 171, 121 (1947).
747. Speck J. F., J. Biol. Chem., 168, 403 (1947); 179, 1405 (1949).
748. Levintow L., Meister A., J. Biol. Chem., 209, 265 (1954).
749. Johnston R. B., Bloch K., J. Biol. Chem., 188, 221 (1951).
750. Chantrenne H., Nature, 160, 603 (1947); Biochim. Biophys. Acta, 2, 286 (1948).
751. Chantrenne H., Nature, 164, 576 (1949); Biochim. Biophys. Acta, 4, 484 (1950).
752. Sheehan J. C., Frank V. S., J. Am. Chem. Soc., 72, 1312 (1950).
753. Bentler M., Netter H., Z. physiol. Chem., 295, 362 (1953).
754. Katchalsky A., Paecht M., Bull. Research Council Israel, 2, 312 (1952).
755. Katchalsky A., Paecht M., J. Am. Chem. Soc., 76, 6042 (1954).
756. Atberton F. R., Openshaw H. T., Todd A. R., J. Chem. Soc., 1945, 382; Atherton F. R., Todd A. R., ibid., 1947, 674.
757. Anderson G. W., Blodinger J., Young R. W., Welcher A. D., J. Am. Chem. Soc., 74, 5304 (1952).
758. Young R. W., Wood K. H., Joyce R. J., Anderson G. W., J. Am. Chem. Soc., 78, 2126 (1956).
759. Goldschmidt S., Obermeier F., Ann., 588, 24 (1954).
759a. Maclaren J. A., Australian J. Chem., 11, 360 (1958).
760. Maclaren J. A., Proc. International Wool Textile Research Conf. (Australia), C-168 (1955).
761. Vaughan J. R., J. Am. Chem. Soc., 73, 1389 (1951).
762. Kenner G. W., Chem. Soc., Special Publ., No. 2, 103 (1955).
763. Michaelis A., Schroeter G., Ber., 27, 494 (1894).
764. Grimmel H. W., Guenther A., Morgan J. F., J. Am. Chem. Soc., 68, 539 (1946).
765. Goldschmidt S., Krauss H. L., Angew. Chem., 67, 471 (1955).
766. Goldschmidt S., Angew. Chem., 62, 538 (1950).
767. Goldschmidt S., Jutz C., Chem. Ber., 89, 518 (1956).
768. Süs O., Ann., 572, 96 (1951).
769. Wieland T., Heinke B., Ann., 599, 70 (1956).
769a. Schramm G., Wissmann H., Chem. Ber., 91, 1073 (1958).
770. Wurtz A., Ann., 71, 326 (1849); 88, 314 (1853).
771. Staudinger H., Helv. Chim. Acta, 5, 87 (1922); Dieckmann W., Breest B., Ber., 39, 3052 (1906).
772. Naegeli C., Tyabji A., Helv. Chim. Acta, 17, 931 (1934); 18, 142 (1935).
773. Petersen S., Ann., 562, 205 (1949).
774. Goldschmidt S., Wick M., Ann., 575, 217 (1952); Z. Naturforsch., 5b, 170 (1950).
775. Fry A., J. Am. Chem. Soc., 75, 2686 (1953).
776. Cahours A., Hofmann A. W., Ann., 102, 285 (1857).
777. Flaschenträger B., Halle F., Z. physiol. Chem., 192, 253 (1930).
778. Hentschel W., Ber., 17, 1284 (1884).
779. Gattermann L., Ann., 244, 29 (1888).
780. Siefken W., Ann., 562, 75 (1949).
781. Grassmann W., Wünsch E., в книге Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, Springer, Wien, 1956, p. 444.
782. Chancel F., Compt. rend., 116, 330 (1893); Schmidt E., Hitzler F., Lahde E., Ber., 71, 1933 (1938).
783. Khorana H. G., J. Chem. Soc., 1952, 2081; Chem. Revs., 53, 145 (1953); Can. J. Chem., 31, 585 (1953); J. Am. Chem. Soc., 76, 3517 (1954); Khorana H. G.,

Todd A. R., J. Chem. Soc., 1953, 2257; Dekker C. A., Khorana H. G. J. Am. Chem. Soc., 76, 3522 (1954); Hall R. H., Khorana H. G., ibid., 76 5056 (1954).
784. Zetzsche F., Fredrich A., Ber., 72, 1477 (1939); 73, 1114 (1940); Zetzsche F., Roettger G., ibid., 73, 465 (1940); Zetzsche F., Baum G., ibid., 75, 100 (1942).
785. Sheehan J. C., Hess G. P., J. Am. Chem. Soc., 77, 1067 (1955).
786. Skita A., Rolfes H., Ber., 53, 1242 (1920).
787. Khorana H. G., Chem. & Ind., 1955, 1087.
788. Sheehan J. C., Hlavka J. J., J. Org. Chem., 21, 439 (1956).
789. Amiard G., Heymes R., Velluz L., Bull. soc. chim., 1955, 1464.
790. Amiard G., Heymes R., Bull. soc. chim., 1957, 1373.
791. Hofmann K., Woolner M. E., Spühler G., Schwartz E. T. J. Am. Chem. Soc., 80, 1486 (1958); Anderson G. W., Gallahan F. M., ibid., 80, 2902 (1958).
791a. Stevens C. L., Munk M. E., J. Am. Chem. Soc., 80, 4065; 4069 (1958).
792. Walker J. F., Formaldehyde, Am. Chem. Soc. Monograph Series, Rheinhold Publ. Corp., New York, Chapter, 14, 1944; French D., Edsall J. T., Advances in Protein Chem., 2, 278 (1945).
793. Ben-Ishai D., J. Am. Chem. Soc., 79, 5736 (1957).
794. Micheel F., Thomas S., Chem. Ber., 90, 2906, 2909 (1957).
795. Wieland T., Schäfer W., Bokelmann E., Ann., 573, 99 (1951).
796. Gordon M., Miller J. G., Day A. R., J. Am. Chem. Soc., 70, 1946 (1948).
797. Bodanszky M., Nature, 175, 685 (1955); Acta Chim. Acad. Sci. Hung., 10, 335 (1957).
798. Bodanszky M., Szelke M., Tömörkiny E., Weisz E., Chem. & Ind., 1955, 1517; Acta Chim. Acad. Sci. Hung., 11, 179 (1957).
799. Iselin B., Rittel W., Sieber P., Schwyzer R., Helv. Chim. Acta, 40, 373 (1957).
800. Farrington J. A., Kenner G. W., Turner J. M., Chem. & Ind., 1955, 601; Farrington J. A., Hextall P. J., Kenner G. W., Turner J. M., J. Chem. Soc., 1957, 1407.
801. Schwyzer R., Iselin B., Feurer M., Helv. Chim. Acta, 38, 69 (1955).
802. Schwyzer R., Feurer M., Iselin B., Kägi H., Helv. Chim. Acta, 38, 80 (1955).
803. Schwyzer R., Feurer M., Iselin B., Helv. Chim. Acta, 38, 83 (1955).
804. Iselin B., Feurer M., Schwyzer R., Helv. Chim. Acta, 38, 1508 (1955).
805. Schwyzer R., Iselin B., в книге Biochemistry of Nitrogen (Virtanen Commemoration), Soumalainen, Tiedeakatemia, Helsinki, 1955, p. 181.
806. Schwyzer R., Iselin B., Rittel W., Sieber P., Helv. Chim. Acta, 39, 872 (1956).
807. Iselin B., Schwyzer R., Helv. Chim. Acta, 39, 57 (1956).
808. Arens J. F., Rec. trav. chim. Pays-Bas, 74, 769 (1955); пат. США 2793204 (1957).
808a. Sheehan J. C., Hlavka J. J., J. Org. Chem., 23, 635 (1958).
808б. Heslinga L., Arens J. F., Rec. trav. chim., 76, 982 (1957).
809. Wieland T., Schäfer W., Ann., 576, 104 (1952).
810. Wieland T., Bernhard H., Ann., 582, 218 (1953).
811. Kenner G. W., Turner J. M., Chem. & Ind., 1955, 602.
812. Schwyzer R., Helv. Chim. Acta, 37, 647 (1954).
812a. Kenner G. W., Thomson P. J., Turner J. M., J. Chem. Soc., 1958, 4148.
812б. Schwyzer R., Sieber P., Helv. Chim. Acta, 41, 2190 (1958).
812в. Schwyzer R., Gorup B., Helv. Chim. Acta, 41, 2199 (1958).

813. Bodanszky M., Chem. & Ind., 1957, 524.
814. Weygand F., Swodenk W., Chem. Ber., 90, 639 (1957).
814a. Schwyzer R., Sieber P., Helv. Chim. Acta, 41, 2186 (1958).
815. Wieland T., Köppe H., Ann., 588, 15 (1954).
816. Pawlewski B., Ber., 31, 661 (1898); 35, 110 (1902).
817. Cronyn M. W., Jiu J., J. Am. Chem. Soc., 74, 4726 (1952).
818. Sheehan J. C., Johnson D. A., J. Am. Chem. Soc., 74, 4726 (1952).
819. Wieland T., Sieber D., Naturwiss., 40, 242, 300 (1953).
820. Wieland T., Sieber D., Bartmann W., Chem. Ber., 87, 1093 (1954).
821. Wieland T., Freter K., Chem. Ber., 87, 1099 (1954).
822. Katsoyannis P. G., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 78, 4482 (1956).
823. Davis N. C., Smith E. L., J. Biol. Chem., 200, 373 (1953).
824. Baddiley J., Mathias A. P., J. Chem. Soc., 1954, 2803.
825. Ботвиник М. М., Аваева С. М., Мистрюков Е. А., ЖОХ, 23, 971, 1716 (1953).
826. Abderhalden E., Bahn A., Z. physiol. Chem., 219, 72 (1933).
827. Sakami W., Toennies G., J. Biol. Chem., 144, 203 (1942).
828. Okawa K., Bull. Chem. Soc. Japan, 30, 976 (1957).
829. Grassmann W., Wünsch E., Deufel P., Zwick A., Chem. Ber., 91, 538 (1958).
830. Wünsch E., Fries G., Zwick A., Chem. Ber., 91, 542 (1958).
830a. Zahn H., Zürn L., Ann., 613, 76 (1958).
831. Bergmann M., Zervas L., Rinke H., Schleich H., Z. physiol. Chem., 224, 26 (1934).
832. Anderson G. W., Welcher A. D., Young R. W., J. Am. Chem. Soc., 73, 501 (1951).
833. Levin Y., Berger A., Katchalski E., Biochem. J., 63, 308 (1956).
834. Brenner M., Burckhardt C. H., Helv. Chim. Acta, 34, 1070 (1951).
835. Kurtz A. C., J. Biol. Chem., 140, 705 (1941).
836. du Vigneaud V., Hunt M., J. Biol. Chem., 125, 269 (1938).
837. Hunt M., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 127, 43 (1939).
838. Greenstein J. P., Klemperer F. W., J. Biol. Chem., 128, 245 (1939).
839. Bergmann M., Zervas L., Z. physiol. Chem., 175, 145 (1928).
840. Wieland T., Schneider G., Ann., 580, 159 (1953).
840a. Anderson G. W., Paul R., J. Am. Chem. Soc., 80, 4423 (1958).
840б. Anderson G. W., McGregor A. C., Young R. W., J. Org. Chem., 23 1236 (1958).
841. Akabori S., Okawa K., Sakiyama F., Nature, 181, 772 (1958).
842. du Vigneaud V., Behrens O. K., J. Biol. Chem., 117, 27 (1937).
843. Zervas L., частное сообщение.
844. Hofmann K., Rheiner A., Peckham W. D., J. Am. Chem. Soc., 75, 6083 (1953).
845. Izumiya N., Makisumi S., J. Chem. Soc., Japan, 78, 1768 (1957).
846. Katsoyannis P. G., J. Am. Chem. Soc., 79, 109 (1957).
847. Boissonnas R. A., Guttmann S., Waller J.-P., Jaquenoud P.-A., Experientia, 12, 446 (1956).
848. Felix K., Dirr K., Z. physiol. Chem., 176, 29 (1928).
848a. Birnbaum S. M., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 39, 108 (1952).
849. Clarke H. T., Gillespie H. B., J. Am. Chem. Soc., 54, 1964 (1932).
850. Zervas L., Otani T., Winitz M., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 75, 290 (1958).

851. Baumann E., Ann., 167, 77 (1873).
852. Schulze E., Winterstein E., Ber., 32, 3191 (1899).
853. Ramsay H., Ber., 41, 4385 (1908).
854. Greenstein J. P., J. Org. Chem., 2, 480 (1937).
855. Kapfhammer J., Müller H., Z. physiol. Chem., 225, 1 (1934).
856. Schütte E., Z. physiol. Chem., 279, 52 (1943).
857. Turba F., Schuster K., Z. physiol. Chem., 283, 27 (1948).
858. Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 109, 541 (1935).
859. Christensen H. N., J. Biol. Chem., 160, 75 (1945).
860. Katchalski E., Spitnik P., Nature, 164, 1092 (1949); J. Am. Chem. Soc., 73, 3992 (1951).
861. White J., J. Biol. Chem., 106, 141 (1934).
862. Loring H. S., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 111, 385 (1935).
863. Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 124, 255 (1938).
864. Holly F. W., Peel E. W., Luz E. L., Folkers K., J. Am. Chem. Soc., 74, 4539 (1952).
865. Ressler C., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 76, 3107 (1954).
866. Pirie N. W., Biochem. J., 25, 614 (1931).
867. du Vigneaud V., Audrieth L. F., Loring H. S., J. Am. Chem. Soc., 52, 4500 (1930).
868. Rudinger J., Honzl J., Zaoral M., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 21, 202 (1956).
869. Tani H., Yuki H., Sakibara S., Mem. Inst. Fiber Research, 7, 100 (1953).
870. Lecher H., Holschneider F., Ber., 57, 755 (1924).
871. Sheehan J. C., Armstrong W. A., 122nd Meeting of the American Chemical Society, Abs., No. 23, p. 15M (1952).
872. King F. E., Clark-Lewis J. W., Wade R., J. Chem. Soc., 1957, 880.
873. Micheel F., Emde H., Ber., 72, 1724 (1939).
874. Sheehan J. C., Yang D.-D. H., J. Am. Chem. Soc., 80, 1158 (1958).
875. Cook A. H., Heilbron I. M., в книге The Chemistry of Penicillin, Princeton Univ., Press., 1949, p. 958.
875а. Fleš D., Markovac-Prpic A., Tomašic V., J. Am. Chem. Soc., 80, 4654 (1958).
875б. Kipnis F., Ornfelt J., J. Am. Chem. Soc., 73, 822 (1951); Parham W. E. Delaitsch D. M., J. Am. Chem. Soc., 76, 4962 (1954).
875в. Holland G. F., Cohen L. A., J. Am. Chem. Soc., 80, 3765 (1958).
875г. Pimlott P. J. E., Young G. T., Proc. Chem. Soc., 1958, 257.
876. Zervas L., Benoiton L., Weiss E., Winitz M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 81, 1729 (1959).
877. Ryle A. P., Sanger F., Biochem. J., 60, 535 (1955).
878. Bergmann M., Zervas L., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 111, 225 (1935).
879. Semb J., Boothe J. H., Angier R. B., Waller W. C., Mowat J. H., Hutchings B. L., Subba Row Y., J. Am. Chem. Soc., 71, 2310 (1949).
880. John W. D., Young G. T., J. Chem. Soc., 1954, 2870.
881. Rowlands D. A., Young G. T., Biochem. J., 65, 516 (1957).
882. Melville J., Biochem. J., 29, 179 (1935).
883. Kermack W. O., Matheson N. A., Biochem. J., 65, 45 (1957).
884. Clark-Lewis J. W., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 207, 477 (1954).
885. Tanenbaum S. W., J. Am. Chem. Soc., 75, 1754 (1953).
886. Baker W., Jones P. G., J. Chem. Soc., 1951, 1143.
887. King J. A., McMillan F. H., Genzer J. D., J. Am. Chem. Soc., 74, 5202 (1952).

888. Swan J. M., Nature, 169, 826 (1952); Australian J. Sci. Research, 5A, 721 (1952).
889. Berenbom M., White J., J. Am. Chem. Soc., 71, 2246 (1949).
890. Rudinger J., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 19, 375 (1954).
891. Sachs H., Brand E., J. Am. Chem. Soc., 76, 1811 (1954).
892. Sheehan J. C., Bolhofer W. A., J. Am. Chem. Soc., 72, 2469 (1950).
893. Battersby A. R., Robinson J. C., J Chem. Soc., 1955, 259; Cason J., J. Org. Chem., 13, 227 (1948).
894. Sorm F., Rudinger J., Collection Czechoslov. Chem. Communs., 15, 491 (1950).
895. Liwschitz Y., Zilkha A., J. Chem. Soc., 1957, 4394.
896. Stein W. H., Moore S., Bergmann M., J. Biol. Chem., 154, 191 (1944).
897. Brand E., Erlanger B. F., Sachs H., J. Am. Chem. Soc., 74, 1849 (1952).
898. Sachs H., Brand E., J. Am. Chem. Soc., 75, 4608 (1953).
899. Hanson H. T., Smith E. L., J. Biol. Chem., 175, 833 (1948).
900. Albertson H. F., Kay F. C., J. Am. Chem. Soc., 75, 5323 (1953).
901. Brand E., Erlanger B. F., Sachs H., J. Am. Chem. Soc., 74, 1851 (1952).
902. Fruton J. S., Hearn W. R., Ingram V. M., Wiggans D. S., Winitz M., J. Biol. Chem., 204, 891 (1953).
903. Bergmann M., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 145, 247 (1942).
904. Zervas L., Otani T., Winitz M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 81, 2878 (1959).
905. Zervas L., Otani T., Winitz M., Greenstein J. P., неопубликованные данные.
906. Gish D. T., Katsoyannis P. G., Hess G. P., Stedman R. J., J. Am. Chem. Soc., 78, 5954 (1956).
907. Fischer R. F., Whetstone R. R., J. Am. Chem. Soc., 77, 750 (1956).
908. Greenstein J. P., Price V. E., J. Biol. Chem., 178, 695 (1949).
909. Boothe J. H., Mowat J. H., Hutchings B. L., Angier R. B., Waller C. W., Stokstad E. L. R., Semb J., Gazzola A. L., Subba Row Y., J. Am. Chem. Soc., 70, 1099 (1948).
910. von Brunn-Leube I., Schramm G., Chem. Ber., 89, 2045 (1956).
911. Fruton J. S., Smith V. A., Driscoll P. E., J. Biol. Chem., 173, 457 (1948).
912. Smith E. L., Slonim N. B., J. Biol. Chem., 176, 835 (1948).
913. Neurath H., Elkins K., Kaufman S., J. Biol. Chem., 170, 221 (1947).
913а. Fölsch G., Acta Chem. Scand., 12, 561 (1958).
914. Zervas L., Katsoyannis P. G., J. Am. Chem. Soc., 77, 5351 (1955).
914а. Sugimura T., Paik W. K., неопубликованные данные.
915. Vaughan J. R., Eichler J. A., J. Am. Chem. Soc., 76, 2474 (1954).
915а. Okawa K., Bull. Chem. Soc. Japan, 31, 88 (1958).
916. Fruton J. S., Bergmann M., J. Biol. Chem., 145, 253 (1942).
917. Roberts C. W., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 204, 871 (1953).
918. Boissonnas R. A., Schumann I., Helv. Chim. Acta, 35, 2229 (1952).
919. Sheehan J. C., Richardson W. L., J. Am. Chem. Soc., 76, 6329 (1954).
919а. Katsoyannis P. G., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 233, 1352 (1958).
920. Work E., Birnbaum S. M., Winitz M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 77, 1916 (1955).
920а. Wieland T., Urbach H., Ann., 613, 84 (1958).
921. Sondheimer E., Holley R. W., J. Am. Chem. Soc., 79, 3767 (1957).
922. Kraml M., Bouthillier L. P., Canadian J. Chem., 33, 1630 (1955).
923. Hofmann K., Bergmann M., J. Biol. Chem., 134, 225 (1940).
924. Fruton J. S., Johnston R. B., Fried M. B., J. Biol. Chem., 190, 39 (1951).
925. Hanson H. T., Smith E. L., J. Biol. Chem., 179, 789 (1949).

926. Behrens O. K., Bergmann M., J. Biol. Chem., 129, 587 (1939).
927. Hamer D., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 193, 81 (1951).
928. Wiggans D. S., Winitz M., Fruton J. S., Yale J. Biol. and Med., 27 11 (1954).
929. Milne H. B., Peng C-H., J. Am. Chem. Soc., 79, 645 (1957).
930. Milne H. B., Halver J. E., Ho D. S., Mason M. S., J. Am. Chem. Soc., 79, 637 (1957).
931. Abderhalden E., Abderhalden R., Weidle H., Baertich E., Marneweg W., Fermentforsch., 16, 98 (1938).
932. du Vigneaud V., Loring H. S., Miller G. L., J. Biol. Chem., 118, 391 (1937).
933. Sachs H., Waelsch H., Arch. Biochem. Biophys., 69, 422 (1957).
934. Sachs H., Brand E., J. Am. Chem. Soc., 76, 3601 (1954).
935. Abderhalden E., Neumann A., Fermentforsch., 14, 133 (1934).
936. Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 128, 241 (1939).
937. Jacobsen C. F., Compt. rend. trav. lab. Carlsberg. Ser. Chim., 26, No. 1—2 (1947).
938. Stahmann M., Fruton J. S., Bergmann M., J. Biol. Chem., 164, 753 (1946).
939. Vaughan J. R., J. Am. Chem. Soc., 73, 3547 (1951).
940. Bergmann M., Zervas L., Schleich H., Leinert F., Z. physiol. Chem., 212, 72 (1932).
941. Simmonds S., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 174, 705 (1948).
942. Wieland T., Ohly K. W., Ann., 605, 179 (1957).
943. Dunn F. W., Dittmer K., J. Biol. Chem., 188, 263 (1951).
944. Beecham A. F., J. Am. Chem. Soc., 79, 3262 (1957).
945. Yang P. S., Rising M. M., J. Am. Chem. Soc., 53, 3183 (1931).
946. Franchimont A. P. N., Friedmann H., Rec. trav. chim., 25, 75 (1906).
947. Dirr K., Späth H., Z. physiol. Chem., 237, 121 (1935).
948. Baugness L. C., Berg C. P., J. Biol. Chem., 106, 615 (1934).
949. Brand E., Erlanger B. F., J. Am. Chem. Soc., 72, 3314 (1950).
950. Abderhalden E., Gohdes W., Fermentforsch., 13, 52 (1931).
951. Levene P. A., Pfaltz M. H., J. Biol. Chem., 70, 219 (1926).
952. Abderhalden E., Köppel W., Fermentforsch., 9, 516 (1928).
953. Thierfelder H., von Cramm E., Z. physiol. Chem., 105, 58 (1919).
954. Abderhalden E., Fodor A., Z. physiol. Chem., 81, 1 (1912).
955. Abderhalden E., Hirsch P., Schuler P., Ber., 42, 3394 (1909).
956. Abderhalden E., Hirsch P., Ber., 43, 2435 (1910).
957. Abderhalden E., Sickel H., Fermentforsch., 9, 462 (1928).
958. Abderhalden E., Sichel H., Z. physiol. Chem., 171, 93 (1927).
959. Wade R., Winitz M., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 78, 373 (1956).
960. Cavallito C. J., J. Biol. Chem., 164, 29 (1946).
961. Kögl F., Akkerman A. M., Rec. trav. chim., 65, 216 (1946).
962. Simmonds S., Tatum E. L., Fruton J. S., J. Biol. Chem., 169, 91 (1947).
963. Abderhalden E., Reich F., Fermentforsch., 10, 173 (1928).
964. Miyamichi E., J. Pharm. Soc. Japan, 95, 537 (1926).
965. Grassmann W., Schulte-Uebbing E., Ber., 83, 244 (1950).
966. Levene P. A., Pfaltz M. H., J. Biol. Chem., 68, 277 (1926).
967. Smith P. W. G., J. Chem. Soc., 1957, 3985.
968. Плехая М. И., ЖОХ, 22, 1675 (1952).
969. Abderhalden E., Schuler J., Ber., 43, 907 (1910).
970. Abderhalden E., Zeisset W., Z. physiol. Chem., 200, 179 (1931).
971. Abderhalden E., Vlassopoulos V., Fermentforsch., 10, 365 (1929).

972. Abderhalden E., Flischmann R., Fermentforsch., 9, 524 (1928).
972a. Theodoropoulos D., J. Org. Chem., 23, 140 (1958).
973. Hess W. C., Sullivan M. X., J. Am. Chem. Soc., 63, 881 (1941).
974. Bergmann M., Schmitt V., Miekeley A., Z. physiol. Chem., 187, 264 (1930).
975. Abderhalden E., Baumann L., Ber., 41, 2857 (1908).
976. Levene P. A., Bass L. A., Steiger R. E., J. Biol. Chem., 81, 221 (1929).
977. Abderhalden E., Brockmann H., Fermentforsch., 9, 446 (1928).
978. Abderhalden E., Zeisset W., Fermentforsch., 13, 330 (1932).
979. Holley R. W., J. Chem. Soc., 77, 2552 (1955).
980. Abderhalden E., Merkel R., Fermentforsch., 15, 1 (1936).
981. Abderhalden E., Ber., 42, 2331 (1909).
982. Hofmann K., Jöhl A., J. Am. Chem. Soc., 77, 2914 (1955).
983. Migliardi C., Arch. sci. biol. Italia, 27, 327 (1941).
984. Okawa K., Bull. Chem. Soc., Japan, 29, 486 (1956).
985. Davis N. C., Adams E., Arch. Biochem. Biophys., 57, 301 (1955).
986. Wieland H., Ber., 45, 484 (1912); Willstätter R., Waldschmidt-Leitz E., ibid., 54, 113 (1921).
987. Shriner R. L., Adams R., J. Am. Chem. Soc., 46, 1683 (1924).
988. Bergmann M., Michalis G., Ber., 63, 987 (1930).
989. Patterson W. I., du Vigneaud V., J. Biol. Chem., 111, 393 (1935).
990. Kendall E. C., McKenzie B. F., Mason H. L., J. Biol. Chem., 84, 657 (1929).
991. Waldschmidt-Leitz E., Kühn K., Chem. Ber., 84, 381 (1951).
992. Weisblat D. I., Magerlein B. J., Myers D. R., J. Am. Chem. Soc., 75, 3630 (1953).
993. Hillmann-Elies A., Hillmann G., Z. Naturforsch., 6B, 340 (1951).
993a. Gawron O., Draus F., J. Org. Chem., 23, 1040 (1958).
994. Schumann I., Boissonnas R., Helv. Chim. Acta, 35, 2235 (1952); Nature, 169, 154 (1952).
995. Rosenthal A. F., J. Org. Chem., 22, 89 (1957).
996. Shankman S., Schvo Y., J. Am. Chem. Soc., 80, 1164 (1958).
997. Fling M., Fox S. W., J. Biol. Chem., 160, 329 (1945).
998. Paik W. K., Birnbaum S. M., Winitz M., Greenstein J. P., неопубликованные данные.
999. Nienburg H., Ber., 68, 2232 (1935).
1000. Fruton J. S., J. Biol. Chem., 165, 333 (1946).
1001. Bovarnick M. R., J. Biol. Chem., 148, 151 (1943).
1002. Akabori S., Narita K., Proc. Acad. Sci. (Japan), 29, 264 (1953).
1003. Perlmann G. E., Advances in Protein Chem., 10, 1 (1955).
1004. Lipmann F., Levene P. A., J. Biol. Chem., 98, 109 (1932).
1005. Lipmann F., Biochem. Z., 262, 3 (1933).
1006. Levene P. A., Hill D. W., J. Biol. Chem., 101, 711 (1933).
1007. de Verdier C.-H., Acta Chem. Scand., 8, 1302 (1954).
1008. Schaffer N. K., May S. C., Jr., Summerson W. H., J. Biol. Chem., 202, 67 (1953).
1009. Agren G., de Verdier C.-H., Glomset J., Acta Chem. Scand., 5, 324 (1951).
1010. de Verdier C.-H., Acta Chem. Scand., 7, 196 (1953).
1011. Manake C., J. Biochem., 14, 201 (1931—1932).
1012. Plimmer R. H. A., Biochem. J., 35, 461 (1941).
1013. Neuberg C., Oertel W., Biochem. Z., 60, 491 (1914).
1014. Winnick T., Scott E. M., Arch. Biochem., 12, 201 (1947).

1015. Sciarini L. J., Fruton J. S., J. Am. Chem. Soc., 71, 2940 (1949).
1016. Wagner-Jauregg T., O'Neill J. J., Summerson W. H., J. Am. Chem. Soc., 73, 5202 (1951).
1017. Paplinger R. E., Wagner-Jauregg T., J. Am. Chem. Soc., 75, 5757 (1953).
1018. Posternak T., Grafl S., Helv. Chim. Acta, 28, 1258 (1945).
1019. Black S., Wright N. G., J. Biol. Chem., 213, 27 (1955).
1020. Meyerhof O., Lohmann K., Biochem. Z., 196, 49 (1928).
1021. Lohmann K., Biochem. Z., 194, 306 (1928).
1022. Ennor A. H., Morrison J. F., Rosenberg H., Biochem. J., 62, 358 (1956).
1023. Zervas L., Naturwiss., 27, 317 (1939).
1024. Li S-O., J. Am. Chem. Soc., 74, 5959 (1952); Li S-O., Eakin R. E., ibid., 77, 1866 (1955).
1025. Zervas L., Dilaris I., J. Am. Chem. Soc., 77, 5354 (1955).
1026. Baum J., Z. physiol. Chem., 9, 465 (1885).
1027. Fischer E., Ber., 32, 2451 (1899).
1028. Sörensen S. P. Z., Höyrup M., Andersen A. C., Z. physiol. Chem., 76, 44 (1911).
1029. Felix K., Müller H., Dirr K., Z. physiol. Chem., 178, 192 (1928).
1030. Ronwin E., J. Org. Chem., 18, 1546 (1953).
1031. Fry E. M., J. Org. Chem., 15, 438 (1950).
1032. Voss W., Guttmann R., Klemm L., Biochem. Z., 220, 327 (1930).
1033. Reissert A., Ber., 23, 2239 (1890); Conrad W., J. prakt. Chem., 15, 246 (1877).
1034. Pyman F. L., J. Chem. Soc., 109, 186 (1916).
1035. Pauly H., Ber., 43, 2243 (1910).
1036. Gerngross O., Z. physiol. Chem., 108, 50 (1919).
1037. Weisiger J. R., J. Biol. Chem., 186, 591 (1950).
1038. Fones W. S., J. Am. Chem. Soc., 75, 4865 (1953).
1039. Itschner K. F., Drechsler E. R., Warner C., Fox S. W., Arch. Biochem. Biophys., 53, 294 (1954).
1040. Ehrlich F., Ber., 37, 1809 (1904).
1041. Fischer E., Ber., 33, 2370 (1900).
1042. Servigne M., Szarvasi E., Compt. rend., 238, 1595 (1954).
1043. von Braun J., Ber., 42, 839 (1909).
1044. Eck J. C., Marvel C. S., J. Biol. Chem., 106, 387 (1934).
1045. Fischer E., Weigert F., Ber., 35, 3772 (1902).
1046. Ross W. F., Green L. S., J. Biol. Chem., 137, 105 (1941).
1047. Karrer P., Ehrenstein M., Helv. Chim. Acta, 9, 323 (1926).
1048. Goldschmidt S., Kinsky A., Z. physiol. Chem., 183, 244 (1929).
1049. Hill E. M., Robson W., Biochem. J., 30, 248 (1936).
1050. Fischer E., Mouneyrat A., Ber., 33, 2383 (1900).
1051. Sörensen S. P. L., Andersen A. C., Z. physiol. Chem., 56, 250 (1908).
1052. West H. D., Carter H. E., J. Biol. Chem., 119, 109 (1937).
1053. Elliott D. F., Biochem. J., 45, 429 (1949).
1054. Elks J., Elliott D. F., Hems B. A., J. Chem. Soc., 1944, 629.
1055. Fischer E., Ber., 32, 3638 (1900).
1056. Fox S. W., Pettinga C. W., Halverson J. S., Wax H., Arch. Biochem., 25, 21 (1950).
1057. Greenstein J. P., Winitz M., Chemistry of the Amino Acids, New York, 1961.

ДОПОЛНЕНИЯ К ГЛАВЕ 5*

Настоящие дополнения имеют целью дать сведения о новых способах защиты функциональных группировок аминокислот и новых методах создания амидной связи. Они охватывают важнейшие данные, появившиеся в литературе с 1958 по 1963 г. Поскольку за этот период появилось огромное число работ по синтезу пептидов, не представлялось возможным хотя бы сколько-нибудь полно осветить их в этом разделе. Приводимые в дополнениях типичные методики имеют целью дать практические рекомендации по синтезу пептидов с применением новых приемов, появившихся в литературе. Более полные сведения можно найти в обзорах [1—4].

Защита аминогруппы

Карбобензокси- и родственные группы. Недавно описаны некоторые новые модификации карбобензоксигруппы. Вейганд [5] предложил использовать *п*-метоксибензилоксикарбонилпроизводные аминокислот в синтезе пептидов. Отщепление этой группировки происходит в более мягких условиях, чем отщепление карбобензоксигруппы. Так, ее можно удалить действием трифторуксусной кислоты при 0°. Введение *п*-метоксибензилоксикарбонильной группы (сокращенно MZ) можно осуществить действием на аминокислоты *п*-метоксибензилоксикарбонилазида или *п*-метоксибензил-*п*-нитрофенилкарбоната (см. типичную методику 179).

Типичная методика 179 [5]. а) *п*-Метоксибензил-*п*-нитрофенилкарбонат. 23,8 *г* (0,118 моля) *п*-нитрофенилового эфира хлоругольной кислоты (см. [6]) медленно прибавляют при 0° к смеси 16,3 *г* *п*-метоксибензилового спирта и 48 *г* пиридина. Смесь размешивают 3 *час* при 20° и затем обрабатывают 50 *мл* воды и трижды извлекают эфиром. Эфирный экстракт промывают 1 н. HCl, насыщенным водным раствором Na_2CO_3 и раствором NaCl, сушат $MgSO_4$ и эфир отгоняют. Остаток дважды кристаллизуют из спирта. Выход 19,3 *г* (53%). Т. пл. 96—97°.

б) N-*п*-Метоксибензилоксикарбонил-L-фенилаланин. 1,32 *г* (8 *ммолей*) L-фенилаланина и 1,28 *г* (16 *ммолей*) MgO растворяют в 20 *мл* воды и раствор обрабатывают 2,75 *г* (9 *ммолей*) *п*-метоксибензил-*п*-нитрофенилкарбоната в 40 *мл* диоксана. Смесь размешивают 26 *час* и фильтруют. Полученный раствор подкисляют уксусной кислотой до pH 5—6, извлекают 1 раз эфиром и пропускают через колонку с дауэкс-50 (в H+-форме), элюируя этилацетатом.

Таблица 101

п-Метоксибензилоксикарбонилпроизводные аминокислот [5]

MZ-аминокислота	Константы				
	т. пл., °C	оптическое вращение			
		$[\alpha]_D$, градусы	температура, °C	c	растворитель
MZ-Глицин	94—96	—	—	—	—
MZ-L-Аланин	74—75	—11,9	23	3,11	AcOH
MZ-L-Лейцин[a]	162	— 6,67	24	2,1	MeOH
MZ-L-Фенилаланин	83—85	+ 5,7	24	2,37	AcOH
MZ-L-Серин	97—98	+ 7,1	25	2,24	AcOH
MZ-L-Метионин[a]	152—153	+ 3,35	21	2,69	MeOH
MZ-L-Глутаминовая кислота	109—111	— 7,44	22	2,02	AcOH
MZ-L-Аспарагиновая кислота	122,5—124	+ 7,1	25	2,82	AcOH
MZ-L-Пролин[a]	147,5—149	—25,1	28	1,68	MeOH
бис-MZ-L-Цистин[a]	190—191	—49,7	26	1,49	AcOH
α-MZ-ε-Z-L-Лизин[a]	133—135	+ 4,4	26	1.59	MeOH

[a] Дициклогексиламмониевые соли.

* Дополнения составлены В. К. Антоновым и Ю. А. Овчинниковым.

После упаривания растворителя получают некристаллизующийся продукт, который характеризуют в виде дициклогексиламмониевой соли. Выход 2,34 *г* (57%), т. пл. 157—159° (с разложением), $[\alpha]_D^{24}$ +22,6° (1,82%, в CH_3OH).

Полученные этим способом *n*-метоксибензилоксикарбонилпроизводные аминокислот перечислены в табл. 101.

Удаление этой защитной группировки проводится по следующей методике:

Типичная методика 180 [5]. α-Бензиловый эфир глутаминовой кислоты. 2,0 *г* (5 *ммолей*) α-бензилового эфира *n*-метоксибензилоксикарбонил-L-глутаминовой кислоты смешивают при охлаждении с 1,25 *г* анизола и 6 *мл* CF_3COOH. Через несколько секунд вся смесь становится гомогенной. Избыток CF_3COOH отгоняют в вакууме и к остатку добавляют немного этилового спирта. Затем pH раствора доводят до 7 добавлением триэтиламина. Смесь выдерживают в холодильнике и выделившийся продукт отсасывают. Получают 1,05 *г* (88%) вещества с т. пл. 145—147° (из водного спирта).

Использование другой модифицированной карбобензоксигруппы, а именно β-*n-толуолсульфонилэтилоксикарбонильной*, основано на легкости расщепления сульфонов в β-положении по отношению к SO_2-группе под влиянием оснований [7, 8]. N-Защитные аминокислоты типа II получают ацилированием свободных аминокислот соответствующим хлоругольным эфиром (I):

$$CH_3C_6H_4SO_2CH_2CH_2OCOCl + NH_2CH(R)COOH \longrightarrow$$
$$\text{I}$$
$$\longrightarrow CH_3C_6H_4SO_2CH_2CH_2OCONHCH(R)COOH$$
$$\text{II}$$

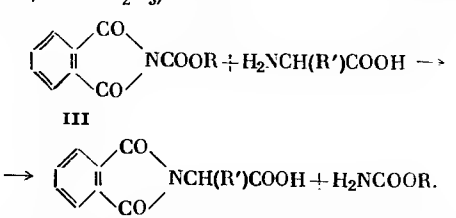
Удаление этой защитной группы проводится в очень мягких щелочных условиях, а потому не затрагиваются эфирные группы пептида (основной ионообменник или при pH 12—13, 20°, 5 *мин*). β-*n*-Толуолсульфонилэтилоксикарбонильная группа не удаляется при гидрогеонолизе, что дает возможность получать N-защищенные пептиды гидрогеонолизом соответствующих бензиловых эфиров. Во всех случаях введения и снятия этой группы отмечались высокие выходы и отсутствие рацемизации.

Сходного типа защитная группа $CH_3C_6H_4SCH_2CH_2OCO$ устойчива в щелочных условиях, однако при окислении легко образуется соответствующий сульфон, расщепляющийся при действии щелочей [8].

В последние годы для защиты аминогруппы аминокислот и пептидов все чаще применяют *трет-бутилоксикарбонильную группу*. Описано несколько новых способов введения этой группы: с помощью *трет*-бутоксикарбонилазида [9], *трет*-бутоксикарбонилимидазола [10] и *трет*-бутоксикарбонитрила [11]. Отщепление этой группы предложено проводить безводной трифторуксусной кислотой [12].

Что касается новых приемов использования самой *карбобензоксизащитной группы*, то следует отметить удобный метод ее отщепления, предложенный Биркофером и сотрудниками [13]. Он заключается в нагревании карбобензоксиаминокислоты или пептида с триэтилсиланом в присутствии $PdCl_2$. Образующийся при этом триэтилсилановый эфир N-триэтилсилиламинокислоты (или пептида) разлагают действием метилового спирта. Этот способ позволяет селективно удалять карбобензоксигруппу в производных S-бензилцистина.

Фталильная группа. Одним из существенных недостатков фталильной группы до недавнего времени было то, что введение ее требовало довольно жестких условий, что иногда приводило или к разложению аминокислоты или к заметной рацемизации. В 1960 г. Нефкенс и сотрудники [14] предложили вводить фталильную группу с помощью N-карбоэтоксифталимида (III; R = C_2H_5)



Вместо N-карбоэтоксифталимида можно использовать также N-карбометокси- (т. пл. 183°), N-карбобензокси- (т. пл. 111°) и N-тозил- (т. пл. 235°) фталимиды.

Типичная методика 181 [14]. а) N-карбоэтоксифталимид. 92,5 *г* фталимида калия суспендируют в 250 *мл* сухого диметилформамида, смесь охлаждают до 5° и прибавляют 50 *мл* свежеперегнанного этилхлоркарбоната так, чтобы температура не поднималась выше 40°. Затем смесь оставляют на 1 *час* при комнатной температуре и выливают в 1,5 *л* воды при сильном размешивании. Выпавший продукт отсасывают, промывают водой и сушат в вакууме над H_2SO_4. Выход 86%, т. пл. 80° (из C_2H_5OH).

б) Фталилглицин. 1,5 *г* глицина и 5,75 *г* $Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$ растворяют в 30 *мл* воды. Затем добавляют 4,5 *г* N-карбоэтоксифталимида. Смесь размешивают до полного растворения реагента (10—15 *мин*), раствор фильтруют и подкисляют 6н. HCl. Выпавший фталилглицин растворяют нагреванием того же раствора и, медленно охлаждая, получают продукт с т. пл. 191°, выход 90,5%.

Другой метод введения фталильной группы заключается в сплавлении аминокислоты с дифениловым эфиром фталевой кислоты в присутствии триэтиламина и фенола [15]. Этот способ не имеет существенных преимуществ по сравнению с обычными.

Таблица 102

Этилтиокарбонилпроизводные аминокислот [16]

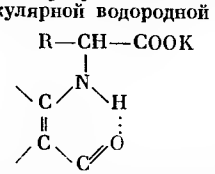
Этилтиокарбонилпроизводное (указана аминокислота)	Т. пл., °C	$[\alpha]_D$ C_2H_5OH	c
Глицин	85—86	—	—
Амид L-аспарагиновой кислоты	161—162	+4	2
DL-Глутаминовая кислота	146—147	—	—
DL-Серин	79—80	—	—
L-Серин	62—64	+12	5
L-Аспарагиновая кислота	125—126	+4	2
DL-Фенилаланин	85—86		
DL-Лейцин	89—90		
DL-Аланин	164—165		
L-Аланин	150—151	−9,5	4
L-Гистидин[a]	139—140		

[a] *бис*-N, N'-Этилтиокарбонил-L-гистидин.

Этилтиокарбонильная и сходные защитные группы. В 1961 г. Хайош [16] предложил использовать наряду с уже известными фенил-, бензил- и метилтиокарбонильными группами также и этилтиокарбонильную группу. Эти группы представляют определенный интерес в связи с легкостью их отщепления при действии надбензойной кислоты (см. стр. 711). Введение этилтиокарбонильной группы проводится ацилированием аминокислот или пептидов этилмеркаптоформилхлоридом [17] в водном карбонате натрия. Выходы обычно не высоки. В табл. 102 приведены этилтиокарбонильные производные некоторых аминокислот.

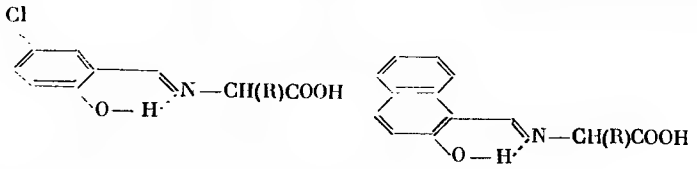
Формильная группа. Описан [18] метод окислительного отщепления формильной группы действием 15%-ной перекиси водорода. Реакция проводится в течение 2 *час* при 60°. Выходы около 80%.

Новые N-защитные группы. В 1962 г. Дане и сотрудники [19] предложили использовать в качестве N-концевых составляющих в пептидном синтезе соединения, образующиеся в результате взаимодействия аминокислот с β-дикарбонильными соединениями. Бензоилацетон, ацетилацетон и циклопентанон-2-карбоновая-1 кислота реагируют с аминокислотами в метанольном KOH, образуя калиевые соли соответствующих азометинов, стабилизированных внутримолекулярной водородной связью:



Удаление таких защитных групп осуществляется действием 2 н. соляной или уксусной кислот.

Шихан и Гренда [20] предложили защищать аминогруппу аминокислот превращением их в шиффовы основания с 5-хлорсалициловым альдегидом или 2-окси-1-нафтилальдегидом:



Ниже приводится методика синтеза такого типа соединений.

Типичная методика 182 [20]. N-(2-окси-1-нафталь)-L-валин. К суспензии 2 *г* (0,017 *моля*) тонкоизмельченного L-валина в 480 *мл* этанола и 35 *мл* метанола прибавляют 4,41 *г* (0,026 *моля*) 2-окси-1-нафтилальдегида. Смесь размешивают 14 *час* при комнатной температуре, причем весь валин растворяется. Затем растворитель отгоняют в вакууме, полученное желтое кристаллическое вещество переносят на фильтр и промывают эфиром. Выход 4.27 *г* (92%), т. пл. 181,5—185° (с разложением), $[\alpha]_D^{25}$ —92,4° (1 % в C_2H_5OH).

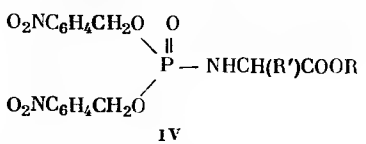
Аналогично с выходом 79% получают (5-хлорсалицилиден)-L-валин, т.пл. 145—148°.

Отщепление защитной группы проводится нагреванием (40°) шиффова основания с 1 эквивалентом разбавленной соляной кислоты (методика 183).

Типичная методика 183 [20]. Хлоргидрат метилового эфира L-валил-L-фенилаланина. 0,16 *г* метилового эфира N-(2-окси-1-нафталь)-L-валил-L-фенилаланина смешивают с 43 *мл* 40%-ного водного CH_3OH и 7,3 *мл* 0,1 н. HCl. Смесь периодически нагревают до 40°, пока весь раствор не станет бесцветным. Затем метанол отгоняют и альдегид извлекают эфиром. Водный слой лиофилизуют и после кристаллизации остатка из смеси метанол—эфир получают вещество с т. пл. 196,5—199°. Выход 87%, $[\alpha]_D^{28}$ +19,3° (2%, в H_2O).

При всех этих операциях рацемизация аминокислоты практически не происходит.

При ацилировании эфиров аминокислот *бис*-(*n*-нитробензил)-фосфорилхлоридом образуются эфиры N-защищенных аминокислот (IV, R = Alk), легко омыляемые до соответствующих N-*бис*-(*n*-нитробензил)-фосфориламинокислот (IV, R = H) [21].



IV

Последние могут быть использованы для синтеза пептидов.

Типичная методика 184 [21]. Метиловый эфир N-[*бис*-(*n*-нитробензил)фосфорил]-L-аланина. 1,4 *г* (10 *ммолей*) хлоргидрата метилового эфира L-аланина в 30 *мл* $CHCl_3$ обрабатывают при охлаждении 2,8 *мл* триэтиламина и затем 3,8 *г* (10 *ммолей*) *бис*-(*n*-нитробензил)-фосфорилхлорида [22]. Смесь оставляют на 12 *час* при комнатной температуре и затем обрабатывают водой. Органический слой промывают соляной кислотой, раствором $KHCO_3$ и снова водой, сушат и отгоняют растворитель. Остаток кристаллизуют из этанола. Выход 90%, т. пл. 88—89°.

Таблица 103

Эфиры *бис*-(*n*-нитробензилфосфорил)-аминокислот [21]

Соединение [a]	Т. пл., °C
Метиловый эфир БНБФ-L-фенилаланина	111
Метиловый эфир БНБФ-L-лейцина	75—76
Дибензиловый эфир БНБФ-L-аспарагиновой кислоты	101
Дибензиловый эфир БНБФ-L-глутаминовой кислоты	84
Диэтиловый эфир БНБФ-L-глутаминовой кислоты	94

[a] БНБФ: *бис*-(*n*-нитробензилфосфорил).

В табл. 103 приведены температуры плавления *бис*-(*n*-нитробензилфосфорил)-производных некоторых аминокислот.

Удаление этой защитной группировки осуществляется гидрогенолизом в присутствии палладиевого катализатора.

Описано также применение некоторых других защитных групп в пептидном синтезе, в частности *o*-нитрофенилсульфенильной [*o*-$O_2NC_6H_4S$]* [23], изопропенильной [24] и триметилсилильной [25]. В практическом отношении эти группы менее интересны, и поэтому подробное описание методов их введения и снятия здесь не целесообразно.

Защита карбоксильной группы

Метиловые, этиловые и бензиловые эфиры. Весьма удобный метод получения метиловых и этиловых эфиров ациламинокислот и ацилпептидов был разработан в 1961 г. Ташнером с сотрудниками [26]. Метод основан на этерификации ациламинокислот соответствующим спиртом в присутствии «льюисовских кислот» (SO_2Cl_2, $ClSO_3H$, PX_3, POX_3, $AlCl_3$, $SiCl_4$, $SnCl_4$ и др.). При этом в отличие от обычных методов этерификации не затрагиваются такие чувствительные к кислотам N-защитные группы, как формильная, тритильная, *трет*-бутилоксикарбонильная и т. п., а также устраняется опасность алкоголитического расщепления лабильных пептидных связей (ω-пептиды аспарагиновой и глутаминовой кислот, высшие пептиды и т. п.).

Типичная методика 185 [26]. Метиловые эфиры ациламинокислот. 1 *ммоль* N-ациламинокислоты или N-ацилпептида растворяют в 2 *мл* абсолютного метанола, содержащего 0,01—0,05 *ммоля* SO_2Cl_2, и раствор оставляют на 48 *час* при 20°. Реакционную смесь упаривают в вакууме, к остатку добавляют 10 *мл* насыщенного раствора $NaHCO_3$ и смесь экстрагируют этилацетатом. Из высушенного этилацетатного раствора выделяют соответствующий метиловый эфир; выходы, как правило, составляют 90—95%.

Эта методика с небольшими изменениями может быть использована и для получения бензиловых эфиров ациламинокислот (методика 186) [27]. Следует отметить, что аналогичным путем могут быть получены также бензиловые эфиры свободных аминокислот, если в качестве исходных веществ использовать соответствующие *n*-толуолсульфонаты (методика 187). Показано, что в случае рассмотренного метода этерификации рацемизации не наблюдается.

Типичная методика 186 [27]. Бензиловые эфиры ациламинокислот. Смесь 1 *ммоля* N-ациламинокислоты или N-ацилпептида, 2 *ммолей* бензилового спирта и 0,01—0,05 *ммоля* SO_2Cl_2 в 5 *мл симм*-тетрахлорэтана нагревают 5 *час* на кипящей водяной бане. Затем растворитель отгоняют в вакууме, остаток растворяют в эфире или этилацетате, полученный раствор промывают насыщенным раствором $NaHCO_3$, высушивают и обычным образом выделяют соответствующий бензиловый эфир; выход 90—95%.

Типичная методика 187 [27]. *n*-Толуолсульфонаты бензиловых эфиров аминокислот и пептидов. Смесь 1 *ммоля* аминокислоты или пептида, 1 *ммоля* $TsOH \cdot H_2O$, 10 *ммолей* бензилового спирта и 0,05—0,1 *моля* SO_2Cl_2 в 3 *мл симм*-тетрахлорэтана нагревают 5 *час* на кипящей водяной бане (через 2—3 *час* образуется прозрачный раствор). Растворитель и избыток бензилового спирта отгоняют в вакууме, маслянистый остаток смешивают с 20 *мл* абсолютного эфира и оставляют на ночь при 0°; выпавшие кристаллы отфильтровывают, промывают эфиром и высушивают в вакуум-эксикаторе. Полученные *n*-толуолсульфонаты могут быть перекристаллизованы из этилацетата или из смеси этанола с эфиром. Выходы обычно составляют 85—95% теории.

Другой метод получения метиловых и этиловых эфиров ациламинокислот, также предложенный Ташнером и сотрудниками [28, 29], основан на реакции переэтерификации с использованием соответствующих сложных эфиров муравьиной или уксусной кислоты; в качестве катализаторов применяются H_2SO_4, TsOH и $HClO_4$.

Типичная методика 188 [28]. Эфиры ацилированных аминокислот и пептидов. Смесь 1 *ммоля* N-ациламинокислоты или N-ацилпептида, 5 *мл* соответствующего эфира муравьиной или уксусной кислоты и 2 *ммолей* 96% H_2SO_4 или $TsOH \cdot H_2O$ оставляют на 4—5 *суток* при 20° и затем упаривают в вакууме. Остаток растворяют в этилацетате или эфире, раствор промывают насыщенным раствором $NaHCO_3$ и водой, высушивают, упаривают в вакууме и продукт реакции перекристаллизовывают из подходящего растворители. Выходы, как правило, составляют 80—90% теории.

Наконец, следует упомянуть еще один общий метод получения метиловых, этиловых и бензиловых эфиров свободных аминокислот, заключающийся в использовании соответствующих диалкил- или дибензилсульфитов (Юнг и сотрудники [30]).

* В самое последнее время эта группа нашла широкое применение в сиитезе пептидов.

Типичная методика 189 [30]. *п*-Толуолсульфонаты эфиров аминокислот. Смесь 0,01 моля аминокислоты, 0,011 моля безводной *п*-толуолсульфокислоты и 5—10 молей соответствующего диалкил- или дибензилсульфита нагревают на кипящей водяной бане в течение нескольких часов до полного растворения. Охлажденный раствор медленно выливают в сухой эфир; при этом выпадает кристаллический осадок *п*-толуолсульфоната. Продукт реакции перекристаллизовывают из подходящего растворителя; выход 90—95% теории.

Новые С-защитные группы. Хотя к 1958 г. в синтетической пептидной химии имелся достаточно большой набор селективно снимаемых N-защитных группировок, число применяемых С-защитных групп оставалось крайне ограниченным, что резко снижало возможности пептидного синтеза. Использование для защиты карбоксильной группы аминокислот и пептидов метиловых и этиловых эфиров было связано с рядом осложнений, поскольку условия их расщепления, предусматривающие сравнительно жесткую обработку щелочами, не только исключали возможность одновременного применения ряда широко распространенных N-защитных групп, но и приводили в ряде случаев к значительной рацемизации оптически активных производных. По существу единственными С-защитными группами, удовлетворявшими возросшим требованиям пептидного синтеза, являлись соответствующие бензиловые эфиры, легко расщепляемые путем каталитического гидрогенолиза. Однако и в этом случае не всегда оказывалось возможным одновременное использование ценной N-карбобензоксигруппы, также легко снимаемой в условиях гидрогенолиза. Кроме того, бензиловые эфиры проявляли значительную чувствительность к щелочам и бромистому водороду в ледяной уксусной кислоте. Поэтому в последние годы были предприняты обширные исследования с целью отыскания новых селективно снимаемых С-защитных групп, и эти исследования увенчались определенным успехом.

1. *трет*-Бутиловые эфиры. В 1958—1959 гг. Ташнер с сотрудниками [31, 32] и независимо Рёшке [33] предложили использовать для защиты карбоксильной функции аминокислоты при пептидном синтезе *трет*-бутиловые эфиры. Этим самым была найдена новая универсальная С-защитная группа, позволившая заметно расширить границы возможностей пептидного синтеза. Особые достоинства *трет*-бутиловых эфиров заключаются в том, что они легко расщепляются под действием кислот в очень мягких условиях и в то же время весьма устойчивы к щелочным агентам и каталитическому гидрогенолизу. Другое преимущество *трет*-бутиловых эфиров аминокислот в сравнении с соответствующими метиловыми, этиловыми и бензиловыми эфирами связано с возможностью их применения в виде свободных оснований, так как последние не обладают заметной склонностью к самоконденсации, могут легко перегоняться в вакууме и храниться без какого-либо изменения. Все эти качества *трет*-бутиловых эфиров обусловили их широкое использование в синтезе сложных природных полипептидов; в частности, на их основе недавно был осуществлен полный синтез адренокортикотропного гормона [34].

В настоящее время известно несколько методов получения *трет*-бутиловых эфиров аминокислот. Один из основных и наиболее широко применяемых методов основан на использовании изобутилена. В 1959 г. Рёшке [33] установил, что при реакции сульфатов свободных аминокислот с изобутиленом в диметоксиэтане, диоксане или диэтиленгликоле в присутствии серной кислоты с выходом 40—45% образуются соответствующие *трет*-бутиловые эфиры. Впоследствии им же было показано [35], что при проведении реакции в более разбавленных растворах выходы возрастают до 60—75%. Кроме того, выход *трет*-бутилового эфира существенно зависит от растворимости сульфата соответствующей аминокислоты в используемом растворителе. Так, например, в случае фенилаланина, сульфат которого хорошо растворим в диоксане, выход составляет 75%, в то время как в случае менее растворимой соли глицина выход не превышает 40%. Как правило, реакция проводится при комнатной температуре в течение нескольких часов, причем *трет*-бутиловые эфиры аминокислот обычно выделяются в виде соответствующих хлоргидратов (методика 190).

Типичная методика 190 [35]. Хлоргидрат α-*трет*-бутилового β-бензилового эфира L-аспарагиновой кислоты. К раствору 3 *г* (0,013 моля) β-бензилового эфира L-аспарагиновой кислоты в смеси 25 *мл* диоксана и 2,5 *мл* концентрированной серной кислоты добавляют 25 *мл* жидкого изобутилена и смесь встряхивают в стеклянном автоклаве в течение 4 *час* при комнатной температуре. Перед тем как открыть автоклав, его следует сильно охладить, поскольку в процессе реакции развивается давление до 3 *ат*. Реакционную массу немедленно выливают в охлажденную смесь 200 *мл* эфира и 125 *мл* 1 н. раствора едкого натра и водный слой тщательно экстрагируют эфиром. Объединенный эфирный раствор высушивают безводным сульфатом натрия и упаривают в вакууме до объема около 5 *мл*. Остаток разбавляют 25 *мл* эфира и в эфирный раствор пропускают ток сухого хлористого водорода; при этом выпадает кристаллический осадок хлоргидрата (иногда для полного осаждения необходимо добавлять петролейный эфир). После перекристаллизации из этилацетата получают 3,0 *г* (73%) вещества с т. пл. 115—117°.

Позднее Андерсон и сотрудники [36—38] предложили другой вариант рассмотренного метода получения *трет*-бутиловых эфиров аминокислот, заключающийся в реакции N-карбобензоксиаминокислот с изобутиленом в хлористом метилене в присутствии кислого катализатора (H_2SO_4 или TsOH) и последующем селективном отщеплении карбобензоксигруппы от образовавшихся *трет*-бутиловых эфиров карбобензоксиаминокислот путем каталитического гидрогенолиза; полученные при этом *трет*-бутиловые эфиры выделяли в таком виде, в каком они были получены, или в виде солей с фосфористой кислотой (методики 191 и 192).

Типичная методика 191 [37]. *трет*-Бутиловый эфир карбобензокси-L-пролина. К раствору 74,3 *г* (0,3 моля) карбобензокси-L-пролина в 600 *мл* хлористого метилена добавляют 3 *мл* концентрированной серной кислоты, реакционную смесь насыщают изобутиленом до увеличения ее объема на 300 *мл* и затем оставляют на 65 *час* при комнатной температуре. Раствор промывают водным раствором карбоната натрия (500 [illegible]) для нейтрализации серной кислоты, органический слой отделяют, промывают [illegible] и концентрируют в вакууме при 60°; остаток при стоянии кристаллизуется. Выход 8[illegible].5 *г* (95%), т. пл. 44 — 45° (из смеси эфира с петролейным эфиром).

Типичная методика 192 [37]. *трет*-Бутиловый эфир L-пролина. 30,5 *г* (0,1 моля) *трет*-бутилового эфира карбобензокси-L-пролина в 250 *мл* абсолютного этанола гидрируют в присутствии 3 *г* 10%-ного палладия на угле (3 *час*). Катализатор отфильтровывают, фильтрат концентрируют в вакууме до объема 75 *мл* и добавляют к нему раствор 8,2 *г* (0,1 моля) H_3PO_3 в 200 *мл* эфира. Смесь экстрагируют водой, водный экстракт подщелачивают путем добавления 7 *г* едкого натра и извлекают эфиром (2 × 100 *мл*). Из высушенного эфирного раствора выделяют 13,2 *г* (77%) вещества с т. кип. 57° (1,5 *мм*).

Весьма оригинальный метод синтеза *трет*-бутиловых эфиров ациламинокислот был разработан Ташнером с сотрудниками [31, 32, 39]; этот метод основан на взаимодействии ациламинокислоты с избытком *трет*-бутилацетата в присутствии хлорной кислоты (реакция переэтерификации). В качестве N-защитных групп были использованы карбобензокси-, фталильная и тозильная группы; было показано, что при гидразинолизе *трет*-бутиловых эфиров фталиламинокислот с высоким выходом образуются соответствующие свободные аминоэфиры.

Типичная методика 193 [39]. Получение *трет*-бутиловых эфиров ациламинокислот. Смесь 1 *ммоля* N-ациламинокислоты, 4 *мл трет*-бутилацетата и 140—340 *мг* (0,1—0,25 *ммоля*) $HClO_4 \cdot 2H_2O$ оставляют на 3—4 *суток* при комнатной температуре (с периодическим встряхиванием); при этом образуется прозрачный раствор. Реакционную смесь разбавляют 20 *мл* эфира или этилацетата, промывают насыщенным раствором $NaHCO_3$ и водой, высушивают безводным сульфатом магния и упаривают в вакууме; остаток перекристаллизовывают из подходящего растворителя. Выходы, как правило, составляют 70—90% от теории.

При применении небольшого избытка хлорной кислоты рассмотренный метод дает возможность получать непосредственно *трет*-бутиловые эфиры свободных аминокислот [40]; последние обычно выделяют в виде хлоргидратов (методика 194).

Типичная методика 194 [40]. Получение *трет*-бутиловых эфиров свободных аминокислот. Смесь 4 *ммолей* аминокислоты, 60 *мл трет*-бутилацетата и 4,4 *ммоля* $HClO_4$ (60%-ный водный раствор) встряхивают в течение 15 *мин* до образования прозрачного раствора и затем оставляют на 4 *суток* при комнатной температуре (иногда в течение этого времени из раствора выпадает осадок перхлората аминокислоты или ее эфира). Затем реакционную смесь охлаждают до 0°, экстрагируют 0,5 н. раствором HCl (4 × 10 *мл*) и водный экстракт сразу нейтрализуют твердым бикарбонатом натрия. Полученный раствор тщательно извлекают эфиром, эфирные вытяжки высушивают безводным сульфатом магния и упаривают. К остатку добавляют рассчитанное количество насыщенного раствора хлористого водорода в эфире; при этом выпадает кристаллический осадок хлоргидрата *трет*-бутилового эфира аминокислоты (иногда для полноты осаждения необходимо добавлять петролейный эфир).

Ташнером и сотрудниками [41] был предложен также другой путь синтеза *трет*-бутиловых эфиров ациламинокислот, заключающийся в конденсации ациламинокислоты с *трет*-бутиловым спиртом с помощью хлорокиси фосфора; отмечено, что при проведении реакции при пониженной температуре рацемизации не наблюдается (методика 195).

Типичная методика 195 [41]. *трет*-Бутиловые эфиры ациламинокислот. К раствору 2 *ммолей* N-ациламинокислоты в 2 *мл* безводного пиридина добавляют 5 *мл* сухого

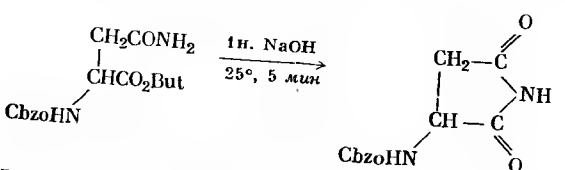
трет-бутилового спирта, раствор охлаждают до —5° и при встряхивании смешивают с 0,22 *мл* (2,4 *ммоля*) $POCl_3$. Реакционную смесь оставляют на 15 *мин* при —5°, затем на 3 *час* при комнатной температуре, разбавляют водой (10 *мл*) и экстрагируют этилацетатом. Экстракт промывают 10 *мл* 1 н. соляной кислоты, 10 *мл* 2%-ного раствора $NaHCO_3$, небольшим количеством воды, высушивают и упаривают в вакууме; остаток перекристаллизовывают из подходящего растворителя.

В тех случаях, когда в молекуле ациламинокислоты имеются дополнительные функциональные группы, чувствительные к действию кислых агентов или $POCl_3$, для получения соответствующих *трет*-бутиловых эфиров может быть использован метод, основанный на реакции серебряных солей ациламинокислот с *трет*-бутилиодидом (Андерсон, 1960 г. [37]; типичная методика 196).

Типичная методика 196 [37]. *трет*-Бутиловый эфир карбобензокси-L-фенилаланина. Раствор 54,5 *г* карбобензокси-L-фенилаланина в избытке концентрированного раствора NH_4OH упаривают в вакууме почти досуха, к остатку добавляют изопропиловый спирт и смесь снова упаривают; прибавляют 200 *мл* воды и полученный раствор добавляют к раствору 30,9 *г* азотнокислого серебра в 200 *мл* воды. Выпавший осадок серебряной соли отфильтровывают, высушивают (74 *г*, 88%), суспендируют в 500 *мл* безводного эфира и к суспензии медленно добавляют 35 *г* предварительно высушенного *трет*-бутилиодида. Иодистое серебро отфильтровывают, промывают эфиром и фильтрат упаривают. Получают 20 *г* (33%, считая на Ag-соль) *трет*-бутилового эфира карбобензокси-L-фенилаланина с т. пл. 81—82° (из водного метанола), $[\alpha]_D^{25}$ —4,4° (2%, в этаноле).

Наконец, можно отметить еще один метод синтеза *трет*-бутиловых эфиров аминокислот, предложенный Воллмаром и Данном [42]. Исходными веществами для синтеза являются *трет*-бутиловые эфиры α-бромкислот, получаемые ацилированием *трет*-бутилового спирта соответствующими бромангидридами или реакцией α-бромкислот с изобутиленом. При взаимодействии *трет*-бутиловых эфиров α-бромкислот с азидом натрия в кипящем водном ацетоне образуются *трет*-бутиловые эфиры соответствующих α-азидокислот, каталитическое восстановление которых в присутствии 5%-ного Pd на угле в метаноле приводит к *трет*-бутиловым эфирам соответствующих аминокислот, выделяемым в виде хлоргидратов. Хотя выходы на всех стадиях достаточно высокие, метод имеет ограниченное применение, поскольку может быть использован лишь для получения рацемических соединений.

Для расщепления *трет*-бутиловых эфиров аминокислот и пептидов обычно используют их обработку кислыми агентами при комнатной температуре, а именно: а) безводной трифторуксусной кислотой (20°, несколько минут) [43—45], б) хлористым водородом в различных органических растворителях (CH_2Cl_2, CH_3NO_2, этилацетат и др.) [46—49], бромистым водородом в ледяной уксусной кислоте [33, 37] и *п*-толуолсульфокислотой в бензоле (кипячение, 30 *мин*) [36—38]. Следует учитывать, что в некоторых случаях *трет*-бутиловые эфиры оказываются весьма лабильными к щелочам; например, Рёшке [35] отметил, что при обработке *трет*-бутилового эфира карбобензокси-L-аспарагина 1 н. раствором NaOH легко образуется карбобензоксиамино-L-сукцинимид:



В табл. 104 приведены *трет*-бутиловые эфиры некоторых аминокислот, полученные с помощью рассмотренных выше методов.

2. *п*-Нитробензиловые эфиры. Эта защитная группа впервые была использована в пептидном синтезе Швицером и сотрудниками [52, 53]. Основное преимущество *п*-нитробензиловых эфиров аминокислот и пептидов в сравнении с соответствующими бензиловыми эфирами состоит в их значительной устойчивости к действию бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте; это создает возможность одновременного применения N-карбобензоксигруппы и ее селективного удаления без каких-либо осложнений [54, 55]. С другой стороны, *п*-нитробензиловые эфиры легко расщепляются путем каталитического гидрогенолиза в обычных условиях. Еще одно достоинство *п*-нитробензиловых эфиров аминокислот и пептидов заключается в том, что соответствующие производные, как правило, могут быть выделены в кристаллической форме, что облегчает их очистку и идентификацию.

Таблица 104

***трет*-Бутиловые эфиры аминокислот**

Соединение	Т. пл. или т. кип. (*мм*), °C	$[\alpha]_D$ (концентрация и растворитель)	Литература
DL-H-Ala-OBut	58 (13)	—	42
DL-H-Ala-OBut·HCl	139—140,5	—	39, 40
L-H-Asp(OBut)- OH	189—190	+8,5° (1%, 90%-ная CH_3COOH)	51
L-H-Asp-$(OBut)_2$·HCl	152—153	+12,8° (2%, EtOH)	40
L-H-Asp(OBz)-OBut·HCl	115—117	+23,3° (2%, EtOH)	35, 40
L-H-Asp(OBut)-OBz·HCl	110—112	—2,6° (2%, EtOH)	35
L-H-Asp(OBut)-OEt·HCl	158—160	+18,3° (1%, EtOH—$CHCl_3$)	50
DL-H-α-NH_2-But-OBut·HCl	154—154,5	—	40
L-H-CySBz-OBut·HCl	195—196	—37,3° (2%, EtOH)	40
H-Gly-OBut	30 (2)	—	37, 42
H-Gly-OBut·HCl	136	—	39, 40, 42
L-H-Glu(OBut)-OH	168—169	+8,15° (2%, H_2O)	50
L-H-Glu-$(OBut)_2$	110 (0,05)	+16,6° (5,4%, EtOH)	37
L-H-Glu-$(OBut)_2$·HCl	116—117	+18,7° (2%, EtOH)	40
L-H-Glu(OBz)-OBut·HCl	107—108	+16,4° (2% EtOH)	35
L-H-Glu(OBut)-OBz·HCl	124—126	+13,8° (2%, EtOH)	35
L-H-Glu(OMe)-OBu^t·HCl	135—135,5	+21,7° (2%, EtOH)	40
L-H-Ileu-OBut	52 (0,45)	+26,7° (100%)	37
L-H-Ileu-OBut·HCl	158—160	+30,9° (2%, EtOH)	35
DL-H-Ileu-OBut·HCl	103—106	—	40
L-H-Leu-OBut	45 (0,15)	+21,6° (2,5%, EtOH)	37
L-H-Leu-OBut·HCl	163	+19,8° (2%, EtOH)	35, 40
DL-H-Leu-OBut·HCl	145	—	39
ε-Cbzo-L-Lys-OBut·HCl	147—149	+13,6° (2%, EtOH)	35, 40
ε-Tos-L-Lys-OBut·HCl	136—138	+14,8° (2% EtOH)	35
DL-H-Nleu-OBut·HCl	130—130,5	—	40
DL-H-Nval-OBut·HCl	107—108,5	—	40
L-H-Phe-OBut	107 (0,25); т. пл. 6°	+24,6° (100%)	37
D-H-Phe-OBut	115 (0,75); т. пл. 6°	—28,4° (100%)	37
DL-H-Phe-OBut	96 (0,35)	—	37
L-H-Phe-OBut·HCl	—	+44,2° (2%, EtOH)	35
DL-H-Phe-OBut·HCl	202—204	—	40
L-H-Pro-OBut	57 (1,5)	—41,5° (1,8%, EtOH)	37
L-H-Pro-OBut·HCl	110—112	—30,5° (2%, EtOH)	35
DL-H-Pro-OBut·HCl	140,5—141	—	40
L-H-Tyr-OBut	143—145	+24,4° (2%, EtOH)	35, 37
L-H-Val-OBut	63 (1,25)	+25,5° (100%)	37
L-H-Val-OBut·HCl	147—149	+20.5° (2%, EtOH)	35
DL-H-Val-OBut·HCl	118—118,5	—	39, 40

п-Нитробензиловые эфиры оптически активных аминокислот могут быть получены с помощью метода, предложенного Швицером и сотрудниками [52, 53] и впоследствии разработанного Шварцем и Аракава [56]. Метод основан на взаимодействии карбобенз-

оксиаминокислоты с избытком *п*-нитробензилхлорида (или *п*-нитробензилбромида) в присутствии триэтиламина и последующем удалении карбобензоксигрупп с полученного *п*-нитробензилового эфира карбобензоксиаминокислоты путем его обработки бромистым водородом в ледяной уксусной кислоте (методики 197 и 198).

Типичная методика 197 [56]. *п*-Нитробензиловый эфир карбобензоксиглицина. Смесь 4,18 *г* (0,02 *моля*) карбобензоксиглицина, 5,15 *г* (0,03 *моля*) *п*-нитробензилхлорида и 4,2 *мл* (0,03 *моля*) триэтиламина в 35 *мл* этилацетата кипятят в течение 12 *час*; уже через 30 *мин* выпадает осадок хлоргидрата триэтиламина. Затем осадок отфильтровывают, к фильтрату добавляют 5% метанола, раствор охлаждают, промывают последовательно водой, 1 н. HCl, 1 н. раствором $KHCO_3$, насыщенным раствором NaCl, высушивают безводным сульфатом натрия и упаривают в вакууме. Остаток перекристаллизовывают из смеси этилацетата с лигроином; выход 6,32 *г* (92%), т. пл. 107—109,5°.

Типичная методика 198 [56]. Бромгидрат *п*-нитробензилового эфира глицина. К раствору 6,22 *г* *п*-нитробензилового эфира карбобензоксиглицина в 30 *мл* ледяной уксусной кислоты добавляют 20 *мл* 4,7 н. раствора бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте. Через 5 *мин* из раствора начинает выпадать кристаллический осадок бромгидрата; спустя еще 15 *мин* смесь разбавляют 100 *мл* абсолютного эфира, кристаллы отфильтровывают и перекристаллизовывают из смеси абсолютного этанола с этилацетатом. Выход 4,25 *г* (81%), т. пл. 196—202° (ср. с работой [57]).

Аналогичная методика была использована для получения бромгидратов *п*-нитробензиловых эфиров L-фенилаланина (т. пл. 213—216°, $[\alpha]_D^{22}$ — 1,1°, 4% в метаноле), L-лейцина (т. пл. 132,5—134°, $[\alpha]_D^{22}$ +2,6°, 4% в этаноле), L-пролил-L-фенилаланина (т. пл. 143—145°, $[\alpha]_D^{20}$ —26,7°, 2% в этаноле), L-метионина (т. пл. 149—151°, $[\alpha]_D^{27}$ + 4,1°, 2% в метаноле), О-ацетил-L-тирозина (т. пл. 152 — 156°), L-глутамина (т. пл. 175°) и L-аспарагина (т. пл. 170—171°) [53, 56, 57, 58].

Другой метод синтеза *п*-нитробензиловых эфиров аминокислот был предложен в 1961 г. Карпентером с сотрудниками [59]. Метод заключается в кипячении смеси свободной аминокислоты, *п*-нитробензилового спирта и бензолсульфокислоты в четыреххлористом углероде с азеотропной отгонкой воды. Это дает возможность получать непосредственно *п*-нитробензиловые эфиры свободных аминокислот (в виде бензолсульфонатов).

Типичная методика 199 [59]. Бензолсульфонат *п*-нитробензилового эфира L-фенилаланина. Суспензию 1,65 *г* (0,01 *моля*) L-фенилаланина, 2 *г* (0,011 *моля*) $C_6H_5SO_3H$ и 2,1 *г* (0,014 *моля*) *п*-нитробензилового спирта в 130 *мл* сухого четыреххлористого углерода кипятят с обратным холодильником в течение 15 *час*. Конденсат перед возвращением в реакционную колбу предварительно осушается путем его пропускания через колонку с силикагелем или безводным сульфатом кальция. Раствор декантируют с осадка и твердый остаток растворяют в 95%-ном ацетоне; при медленном добавлении к ацетоновому раствору безводного эфира выпадают кристаллы, которые перекристаллизовывают из горячей воды и высушивают в вакууме. Выход 2,93 *г* (65%), т. пл. 190—191°, $[\alpha]_D^{24}$ +11,0° (4% в диметилформамиде).

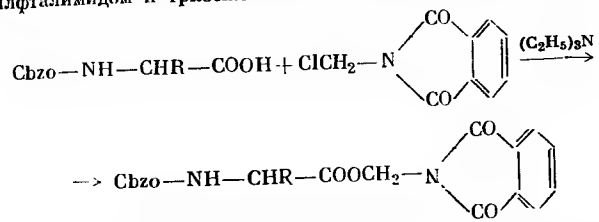
В сущности, эта же методика пригодна для получения бензолсульфонатов *п*-нитробензиловых эфиров N^{ε}-тозил-L-лизина, N^{ε}-*п*-нитрокарбобензокси-L-лизина, L-аланина, DL-гистидина и L-гистидина [59].

Наконец, *п*-нитробензиловые эфиры свободных аминокислот могут быть получены по методу Янга и сотрудников [30] на основе использования ди-*п*-нитробензилсульфита (методика 200).

Типичная методика 200 [30]. *п*-Толуолсульфонат *п*-нитробензилового эфира L-лейцина. Смесь 66 *мг* (0,5 *ммоля*) L-лейцина, 103 *мг* (0,6 *ммоля*) безводной *п*-толуолсульфокислоты и 700 *мг* (2 *ммоля*) ди-*п*-нитробензилсульфита (полученного путем реакции $SOCl_2$ с *п*-нитробензиловым спиртом в сухом пиридине [30]) нагревают при 100° в течение 7 *час*. После охлаждения затвердевшую массу растирают с эфиром, осадок *п*-толуолсульфоната отфильтровывают и перекристаллизовывают из смеси метанола с эфиром. Выход 200 *мг* (91%), т. пл. 207—208°, $[\alpha]_D^{23}$ —0,7° (1% в метаноле).

Фталимидометиловые эфиры. В 1961 г. Нефкенс [60] предложил использовать для защиты карбоксильной группы аминокислот при пептидном синтезе фталимидометиловые эфиры. Последние аналогично *трет*-бутиловым эфирам весьма устойчивы к каталитическому гидрогенолизу, но легко расщепляются под действием кислых агентов, таких, как хлористый водород в диоксане или этилацетате, а также бромистый водород в ледяной уксусной кислоте; кроме того, фталимидометильная группа может быть удалена путем обработки соответствующего производного гидразингидратом в этаноле (20°, 3 *час*).

Фталимидометиловые эфиры карбобензоксиаминокислот получаются аналогично соответствующим *п*-нитробензиловым эфирам путем нагревания ациламинокислоты с N-хлорметилфталимидом и триэтиламином в этилацетате:



Выходы, как правило, составляют 70—80%; во всех случаях получения фталимидометиловых эфиров рацемизации не наблюдалось. Удаление карбобензоксигруппы с полученных производных путем каталитического гидрогенолиза приводит к фталимидометиловым эфирам свободных аминокислот, обычно выделяемым в виде соответствующих *п*-толуолсульфонатов.

β-Метилтиоэтиловые эфиры. Использование метилтиоэтиловых эфиров в качестве С-защитной группы при синтезе пептидов было рекомендовано Райдоном и Уиллетом [61] на том основании, что эти эфиры расщепляются в очень мягких щелочных условиях. Метилтиоэтиловые эфиры аминокислот могут быть получены а) реакцией ациламинокислоты с β-хлорэтилметилсульфидом и триэтиламином в кипящем этилацетате или нагреванием указанных реагентов при 200° в запаянной трубке; б) взаимодействием β-хлорэтилметилсульфида со свободной аминокислотой или ее серебряной солью в водном растворе; в) этерификацией ациламинокислоты β-оксиэтилметилсульфидом в присутствии кислых катализаторов. В качестве N-защитных групп были использованы трифторацетильная, фталильная, тритильная и карбобензоксигруппы; однако указанный метод эффективен лишь в случае применения тритильной группы, так как последняя может селективно отщепляться при нагревании N-тритильных производных β-метилтиоэтиловых эфиров аминокислот и пептидов с *п*-толуолсульфокислотой в метаноле.

Расщепление метилтиоэтиловых эфиров осуществляют алкилированием соответствующих производных иодистым метилом в ацетоне или нитрометане и последующей обработкой образующихся иодметилатов водной щелочью при pH 9—10.

$$XNHCH_2CO_2H \xrightarrow{ClCH_2CH_2SMe} XNHCH_2COOCH_2CH_2SMe \xrightarrow{MeI}$$

$$\rightarrow [XNHCH_2COOCH_2CH_2\overset{+}{S}Me_2]I^- \xrightarrow{NaOH} XNHCH_2COOH + [CH_2{=}CH\overset{+}{S}Me_2]I^-.$$

Существенным недостатком рассмотренного метода является возможность N-алкилирования при обработке производных ациламинокислот и ацилпептидов иодистым метилом.

п-Метоксибензиловые (анизиловые) эфиры. Эти эфиры, предложенные в качестве С-защитной группы Вейгандом и сотрудниками [5], по своим свойствам аналогичны *трет*-бутиловым эфирам, но до настоящего времени не нашли широкого применения в синтезе пептидов. Это связано, по-видимому, с тем, что метод их получения достаточно сложен; он заключается в конденсации ациламинокислоты (обычно карбобензоксипроизводного) с *п*-метоксибензиловым спиртом с помощью дициклогексилкарбодиимида в тетрагидрофуране. *п*-Метоксибензиловые эфиры легко расщепляются безводной трифторуксусной кислотой при комнатной температуре.

Защищенные гидразиды аминокислот. Эта оригинальная С-защитная группа впервые была предложена Гофманом и сотрудниками [62, 63], которые использовали в пептидном синтезе N-карбобензоксигидразиды аминокислот (см. гл. 5). Особое преимущество такого рода защитной группировки заключается в том, что после снятия карбобензоксигруппы полученное производное можно непосредственно вводить в пептидный синтез с помощью азидного метода. В связи с этим надо отметить, что в 1959 г. Вейганд и сотрудники [64] предложили использовать в качестве С-защитной группы тритилгидразиды; последние могут быть получены путем конденсации ациламинокислоты с тритилгидразином с помощью дициклогексилкарбодиимида [65, 66]; тритильная группа легко отщепляется при действии хлористого водорода в метаноле. В последнее время в синтезе природных полипептидов и их аналогов широко используются *трет*-бутилоксикарбонилгидразиды [67—72]; их синтез осуществляют путем взаимодействия ациламинокислоты или ацилпептида с *трет*-бутилоксикарбонилгидразином [73, 74] с применением метода

смешанных ангидридов [69], [71] или карбодиимидного метода [72]. Отщепление *трет*-бутилоксикарбонильной группы проводится в тех же условиях, что и в случае соответствующих N-ацильных производных аминокислот.

По существу единственной С-защитной группой, снимаемой окислительным путем, являются соответствующие фенилгидразиды. Так, было показано, что при обработке фенилгидразидов ацилированных аминокислот и пептидов такими окислителями, как ацетат меди или хлорное железо в метилцеллосольве (100°, 1 *час*) [75, 76] или двуокись марганца в ледяной уксусной кислоте (20°, 40 *мин*) [77], образуются соответствующие свободные кислоты; при этом выделяется свободный азот, измерение количества которого в приборе Ван-Слайка позволяет следить за ходом реакции. Отмечено, что указанная реакция не сопровождается рацемизацией и расщеплением пептидных связей [76]. Фенилгидразиды ациламинокислот могут быть получены путем конденсации соответствующих азидов с фенилгидразином при 0° [78] или энзиматическим путем с использованием папаина [76].

Методы образования пептидной связи

Азидный метод. Этот метод по-прежнему широко используется в синтезе пептидов благодаря относительной простоте и отсутствию рацемизации. В 1961 г. Вейнсток [79] модифицировал способ получения азидов ациламинокислот, предложив получать их методом смешанных ангидридов из ациламинокислот и азида натрия. Этот способ дает хорошие результаты и не сопровождается побочными реакциями.

В связи с применением в качестве С-защитных групп замещенных гидразидов удается избежать затруднений, связанных с образованием азидов пептидов. Швицер [68] при синтезе пептида с последовательностью аминокислот тирозидина В использовал *трет*-бутилоксикарбонилгидразиды пептидов. Последние обрабатывались безводной трифторуксусной кислотой (20°, 1 *час*) и затем при —10° твердым нитритом натрия. Получающийся азид без выделения вводили в конденсацию с аминным компонентом.

Хлорангидридный метод. Вследствие происходящей при использовании хлорангидридного метода значительной рацемизации ациламинокислот этот метод используется очень редко. Однако в специальных случаях синтеза атипичных пептидов, например депсипептидов, он получил широкое применение. В этом случае в пептидный синтез вводится О-аминоацилоксикислота, активация карбоксильной группы в которой не сопровождается рацемизацией [80].

$$\mathrm{XNHCH(R')COOCH(R'')COCl} + \mathrm{NH_2CH(R')COOCH(R'')COOR} \longrightarrow$$
$$\longrightarrow \mathrm{XNHCH(R')COOCH(R'')CONHCH(R')COOCH(R'')COOR}.$$

По-видимому, через стадию образования хлорангидридов происходит образование пептидов при действии эфиров аминокислот и хлорвинилловых эфиров (IV) на ациламинокислоты [81]:

$$\mathrm{XNHCH(R')COOH} + \underset{\mathrm{IV}}{\mathrm{CH_2{=}C(Cl)OC_2H_5}} \longrightarrow$$
$$\longrightarrow [\mathrm{XNHCH(R')COOC(CH_3)OC_2H_5}]_{\mathrm{Cl}} \xrightarrow[-\mathrm{CH_3COOC_2H_5}]{}$$
$$\longrightarrow \mathrm{XNHCH(R')COCl} \xrightarrow{\mathrm{H_2NR''}} \mathrm{XNHCH(R')CONHR''}.$$

Аналогично протекает реакция образования пептидов в присутствии дихлорметилалкиловых эфиров [82]. Этот метод можно использовать для получения хлорангидридов N-тозил- или фталоиламинокислот (выходы 70—90%) или N-карбоксиангидридов аминокислот [83].

Смешанные ангидриды. Упомянутые выше дихлорметилалкиловые эфиры образуют с эквимолярным количеством ациламинокислот соединения типа V, которые можно рассматривать как смешанные ангидриды ациламинокислот и ортомуравьиной кислоты [83].

$$\mathrm{XNHCH(R')COO}\diagdown\!\!\diagdown\mathrm{CHOR}\diagdown\!\!\diagdown\mathrm{XNHCH(R')COO}$$
$$\mathrm{V}$$

Эти соединения с эфирами аминокислот образуют пептид и исходную ациламинокислоту. Смешанные ангидриды ациламинокислот образуются также при действии на последние дифенилкетена [84].

$$\mathrm{XNHCH(R')COOH} + (\mathrm{C_6H_5})_2\mathrm{C{=}C{=}O} \longrightarrow$$
$$\longrightarrow \mathrm{XNHCH(R')COOCOCH(C_6H_5)_2} \xrightarrow{\mathrm{H_2NR''}} \mathrm{XNHCH(R')CONHR''}.$$

Далее, при действии эфира аминокислоты образуется эфир дипептида. Реакцию проводят следующим образом:

Типичная методика 201 [84]. Этиловый эфир карбобензокси-L-фенилаланилглицина. К охлажденному до —15° раствору 2,99 *г* (0,01 *моля*) карбобензокси-L-фенилаланина в 8 *мл* тетрагидрофурана прибавляют 1,73 *г* (0,01 *моля*) дифенилкетена и 1 мол.% триэтиламина. Через 1 *мин* прибавляют 1,03 *г* (0,01 *моля*) этилового эфира глицина. Через 2—3 *час* отгоняют тетрагидрофуран в вакууме и остаток растворяют в этилацетате и промывают раствором $NaHCO_3$, насыщенным водным раствором NaCl и водой, сушат и остаток кристаллизуют из смеси этилацетат — петролейный эфир. Выход 2,3 *г* (60%), т. пл. 109,5—110,5°, $[\alpha]_D^{22}$ —16,3° (2%, в C_2H_5OH).

Смешанные ангидриды тозиламинокислот с пивалиновой кислотой при действии эфиров аминокислот превращаются с выходами 65—75% в дипептиды [85]. Использование пивалиновой кислоты позволяет в значительной мере избежать побочных реакций, таких, как образование N-карбоксиангидридов и др.

Смешанные ангидриды с *п*-толуолсульфокислотой были использованы для синтеза ряда ди- и трипептидов карбобензоксиаминокислот [86]. Реакция проводится в растворе тетрагидрофурана или ацетонитрила при —10° действием на триэтиламмониевую соль ациламинокислоты *п*-толуолсульфохлоридом и затем эфиром аминокислоты. При образовании этим способом дипептидов рацемизация обычно невелика, однако конденсация карбобензоксиглицил-L-фенилаланина с этиловым эфиром глицина привела к полностью рацемическому трипептиду.

Предложен ряд новых методов синтеза пептидов с использованием в качестве активирующих агентов различных соединений фосфора. Шрамм и Висман [87], а затем Эрлангер и Коковский [88] получили пептиды с использованием пятиокиси фосфора. При этом наблюдалась значительная рацемизация [88]. Реакцию проводили следующим образом: раствор ациламинокислоты, хлоргидрата эфира аминокислоты (или пептида) и 2 экв. три-*н*-бутиламина в диэтилфосфите прибавляют к раствору P_2O_5 в том же растворителе. После 40-минутного нагревания смесь выливают в раствор бикарбоната натрия, причем образовавшийся эфир пептида выпадает в осадок.

Зервас и сотрудники [21] использовали для конденсации N-(дибензилфосфорил)-аминокислот с эфирами аминокислот дифенилфосфорилхлорид.

Последний с карбоксильной составляющей образует смешанный ангидрид

$$(\mathrm{ArCH_2O})_2\mathrm{PONHCH(R)COOPO(OC_6H_5)_2}.$$

Конденсация проводится при 0° в растворе тетрагидрофурана. Выходы обычно превышают 70%.

Заорал модифицировал известный метод получения пептидов с помощью фосгена [89]. Он использовал реагент, получающийся при взаимодействии диметилформамида с фосгеном:

$$[(\mathrm{CH_3})_2\mathrm{N{=}CHCl}]^+\mathrm{Cl}^-.$$

Реакция проводится в хлороформе, хлористом метилене или диметилформамиде при температуре от —5 до —10° и сопровождается заметной рацемизацией. Вероятно, в этом синтезе в качестве активного промежуточного продукта образуется хлорангидрид ациламинокислоты.

Карбодиимидный метод. Этот метод образования пептидной связи по-прежнему остается одним из наиболее часто применяемых. За последние годы появился ряд работ, в которых обсуждается механизм этой реакции. Так, по данным Шюслера и Цана [90], промежуточными продуктами при карбодиимидном синтезе являются симметричные ангидриды ациламинокислот. Такого типа ангидриды выделяли также и японские исследователи [91]. Новак и Симпон [92] показали, что ациламинокислоты легко образуют с дициклогексилкарбодиимидом азлактоны.

Общие принципы образования амидной связи с помощью карбодиимидов рассмотрены в 1961 г. Бузасом, Эньелем и Фреоном [93]. Эти исследователи отмечают большое значение выбора растворителя, причем лучшие результаты получаются с безводными неполярными растворителями. Оптимальная температура реакции 0° и продолжитель-

ность 3 *час*. Отмечено также, что сила ациламинокислоты мало влияет на результат реакции, однако реакция идет тем лучше, чем слабее основание.

В последнее время все большее внимание привлекают водорастворимые карбодиимиды. Их использование устраняет основной недостаток карбодиимидного метода — образование труднорастворимых диалкилмочевин, загрязняющих основной продукт реакции. Удобный метод синтеза некоторых водорастворимых карбодиимидов приведен Шиханом и сотрудниками [94]. Ниже приведен метод получения одного из таких карбодиимидов.

Типичная методика 202 [94]. 1-Этил-3-(3-диметиламинопропил)-карбодиимид. К раствору 20,5 *г* (0,288 *моля*) этилизоцианата в 200 *мл* безводного эфира медленно прибавляют 28,9 *г* (0,28 *моля*) N,N-диметил-1,3-пропандиамина в 100 *мл* эфира. Смесь размешивают 2 *час* при комнатной температуре, отгоняют эфир и получают 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)-мочевину в виде бледно-желтого масла. К раствору 42 *г* (0,24 *моля*) этого продукта в 750 *мл* хлористого метилена и 130 *мл* триэтиламина при 5° или ниже прибавляют раствор 91,3 *г* (0,48 *моля*) чистого *п*-толуолсульфохлорида в 500 *мл* хлористого метилена. Смеси дают нагреться до комнатной температуры и затем кипятят 3—4 *час*. Затем смесь размешивают с 200 *мл* 40%-ного водного раствора карбоната калия, отделяют водный слой и твердый осадок, а органический слой снова дважды размешивают с раствором K_2CO_3 и фильтруют. Объединенные водные вытяжки извлекают хлористым метиленом, экстракт присоединяют к основному раствору и отгоняют органические растворители. Полученное масло извлекают эфиром, эфир отгоняют и остаток перегоняют в вакууме. Получают 19,3 *г* (51%) карбодиимида с т. кип. 53—54°/0,6 *мм*, n_D^{22} 1,4594.

Аналогично получают и другие карбодиимиды типа VI:

$$R{-}N{=}C{=}NCH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2,$$

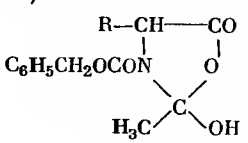
VI

где

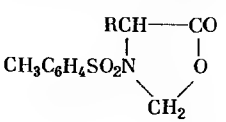
$$R{=}(CH_3)_2CH \text{ или } C_6H_{11}.$$

Описано применение N-(3-диметиламинопропил)-N-*трет*-бутилкарбодиимида для синтеза пептидов, содержащих остаток саркозина [95], а также применение четвертичных солей, образующихся при метилировании карбодиимидов (VI) галогенным метилом или диметилсульфатом [94].

Синтез пептидов через оксазолоны и другие циклические производные аминокислот. Синтез пептидов азлактонным методом в настоящее время практически не применяется из-за значительной рацемизации. Однако активацию карбобензоксиаминокислот уксусным ангидридом, по данным Стелакатоса [96], можно проводить без потери оптической активности; при этом в качестве промежуточного продукта образуется, по-видимому, оксазолидон (VII).



VII

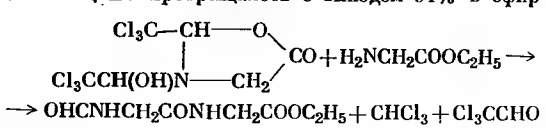


VIII

Этим методом получаются оптически активные пептиды, правда с довольно низкими выходами.

При обработке тозиламинокислот формальдегидом образуются N-тозилоксазолидоны (VIII). Последние при нагревании с эфирами аминокислот образуют соответствующие тозилдипептиды [97].

Дане с сотрудниками [98] также использовали оксазолидоны в пептидном синтезе. Действуя, например, на глицин хлоралем, они получили соединение IX, которое при обработке эфиром глицина превращалось с выходом 91% в эфир формилдипептида.



$$\rightarrow OHCNHCH_2CONHCH_2COOC_2H_5 + CHCl_3 + Cl_3CCHO$$

Для синтеза пептидов, содержащих остатки полифункциональных аминокислот (серина, цистеина, гистидина), Шихан [99] использовал их β-лактоны, β-тиолактоны и лактамы, что позволило одновременно активировать карбоксильную группу и защитить OH-, SH- или NH-функции аминокислоты.

Образование пептидов с помощью активированных эфиров. Описан удобный метод получения *п*-нитрофениловых эфиров аминокислот с помощью дициклогексилкарбодиимида [100, 101].

Типичная методика 203 [101]. К 0,2—0,5-молярному раствору карбобензоксиаминокислоты в этилацетате при 0° добавляют небольшой избыток (~20%) нитрофенола и затем эквимолекулярное количество дициклогексилкарбодиимида. Через 0,5 *час* смесь нагревают до комнатной температуры и оставляют еще на 1 *час*. Затем отфильтровывают N,N′-дициклогексилмочевину, ее промывают этилацетатом и фильтрат выпаривают досуха. Остаток растворяют в горячем этаноле и раствор охлаждают. *п*-Нитрофениловые эфиры карбобензоксиаминокислот выделяются из раствора в кристаллическом виде.

Этим способом получены перечисленные в табл. 105 соединения.

Таблица 105

п-Нитрофениловые эфиры карбобензоксиаминокислот [101]

п-Нитрофениловый эфир N-карбобензокси- (указана аминокислота)	Выход, %	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$ (2%, в ДМФ)
L-Лейцин	86	95	—33,5
L-Пролин	89	94— 96	—68
S-Бензил-L-цистеин	90	93— 94	—43
L-Аспарагин	43	165—166	—31,5
L-Глутамин	59	155—156	—24
L-Изолейцин	85	60— 62	—15,5
O-Бензил-L-тирозин	90	148—150	—9

Гудман и Штюбен [102] предложили использовать активированные эфиры в синтезе трипептидов без выделения промежуточных активированных эфиров дипептидов. *п*-Нитрофениловый эфир карбобензоксиаминокислоты действием HBr в ледяной CH_3COOH превращают в бромгидрат эфира аминокислоты (см. табл. 106), который затем конденсируют с ациламинокислотой карбодиимидным методом или методом смешанных ангидридов. Полученный *п*-нитрофениловый эфир ацилдипептида без выделения вводят в конденсацию с эфиром аминокислоты.

Таблица 106

Бромгидраты *п*-нитрофениловых эфиров аминокислот [102]

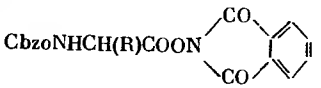
Бромгидрат *п*-нитрофенилового эфира (указана аминокислота)	Выход	Т.пл., °С[a]	$[\alpha]_D^{25}$	с в C_2H_5OH
Глицин	96	213—213,5		
L-Фенилаланин	91	215—216	+46,8	2,3
L-Лейцин	92	198,5—199,5	+11,4	2,2
L-Аланин	97	182—183,5	—2,4	2,1
L-Пролин	99	198—199	—18,6	2,2
L-Цистеин	97	155—155,5	—14,6	2,1
L-Глутамин	100	155,5—157		
γ-Бензиловый эфир L-глутаминовой кислоты	84	120—120,5	+26,9	2,0

[a] С разложением.

Плесс и Буассона [103] сопоставили скорости аминолиза различных активированных эфиров, в том числе и 2,4,6-трихлорфениловых эфиров, предложенных Купришевским

[104]. Последние более активны по сравнению, например, с *п*-нитрофениловыми эфирами. Так, выход метилового эфира фталоилглицилглицина, исходя из соответствующего нитрофенилового эфира глицина, составляет лишь 36%, а если исходить из трихлорфенилового эфира, то он достигает 58% [104]. Оптимальные выходы по этому методу составляют 76—93%. Однако трихлорфениловые эфиры имеют тот недостаток, что удаление образовавшегося при аминолизе трихлорфенола не всегда достаточно легко.

Нефкенс и сотрудники [105, 106] использовали в пептидном синтезе оксифталимидоэфиры защищенных аминокислот



Эти соединения легко получаются из N-оксифталимида [107] и карбобензоксиаминокислот с помощью дициклогексилкарбодиимида (см. табл. 107).

Таблица 107

Оксифталимидоэфиры карбобензоксиаминокислот [106]

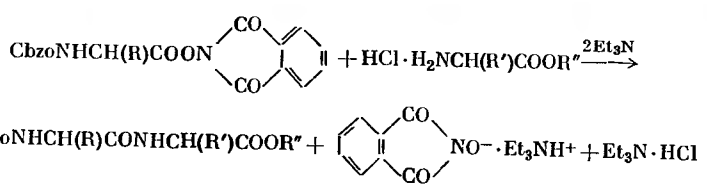
N-Оксифталимидоэфир карбобензокси-(указана аминокислота)	Выход, %	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{22}$ в CH_3COOH, град.
Глицин	65	124	—
L-Лейцин	65	112	—34 (*c*=1)
L-Пролин	70	109	—81,9(*c*=1)
DL-Фенилаланин	73	109	—
L-Фенилаланин	79	117—119	—44,6(*c*=2)
S-Бензил-L-цистеин	65	110—112	—46,8(*c*=1)
Ацетил-DL-лейцин[a]	15	142—143	—

[a] Получен из ацетил-L-лейцина.

Конденсация этих эфиров с эфирами аминокислот происходит при 0° в течение нескольких секунд и не сопровождается рацемизацией. Выходы почти количественные.

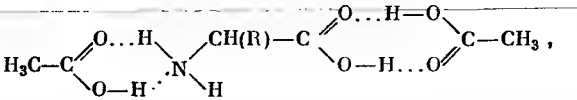
Типичная методика 204 [106]. 0,005 *моля* N-оксифталимидоэфира карбобензоксиаминокислоты и 0,005 *моля* хлоргидрата эфира аминокислоты растворяют в небольшом количестве диметилформамида или хлороформа. После охлаждения смеси до —10° при размешивании добавляют 0,01 моля чистого триэтиламина и затем через минуту прибавляют этилацетат. Смесь промывают водой, разбавленной HCl, снова водой и раствором $NaHCO_3$. Этилацетатный раствор сушат и отгоняют. Полученный дипептид перекристаллизовывают из подходящего растворителя.

Реакция протекает по схеме



Вейганд и сотрудники [15, 108] предложили конденсировать активированные эфиры (в большинстве случаев тиофениловые) со свободными аминокислотами в уксусной

кислоте. По мнению авторов, уксусная кислота образует с аминокислотой комплекс



что препятствует переходу аминокислоты в биполярную форму. Реакция проводится кипячением в течение 1—2 *час* раствора тиофенилового эфира карбобензокси- или фталоиламинокислоты и свободной аминокислоты в ледяной уксусной кислоте. Выходы в большинстве случаев превышают 70%, и не наблюдается заметной рацемизации. Худшие результаты получают при конденсации стерически затрудненных и полифункциональных аминокислот. Метод часто осложняется побочной реакцией ацетилирования аминокислот. Этот метод был использован для получения не только ди-, но и высших пептидов, исходя из эфиров карбобензокси- или фталоилпептидов и свободных пептидов.

Через стадию образования активированных эфиров идет, очевидно, ряд реакций синтеза пептидов с помощью ненасыщенных соединений.

Так, Шихан [109] и независимо Аренс и сотрудники [110] предложили использовать для синтеза пептидов этоксиацетилен. Реакция идет, по-видимому, следующим образом:

$$XNHCH(R)COOH + CH{\equiv}C{-}OEt \rightarrow XNHCH(R)COOC(OEt){=}CH_2 \xrightarrow{NH_2R'}$$
$$\rightarrow XNHCH(R)CONHR' + CH_3COOEt.$$

Однако при использовании в качестве аминокомпонента галогенгидратов эфиров аминокислот последние могут образовывать с этоксиацетиленом галогенэфиры.

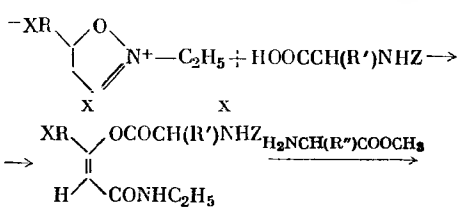
$$CH_2{=}C(Cl)OEt \text{ или } CH_3CCl_2(OEt),$$

реакция с которыми может идти через стадию образовании хлорангидридов ациламинокислот (см. выше).

Типичная методика 205 [110]. Этиловый эфир карбобензоксиглицил-L-фенилаланилглицина. Смесь карбобензоксиглицил-L-фенилаланина (5,2 *ммоля*), этилового эфира глицина (5,0 *ммоля*) и 20 *ммолей* этоксиацетилена кипятят в растворе 50 *мл* этилацетата, содержащего 0,5% воды, в течение 40 *мин*. Раствор затем промывают 1 н. HCl, водой, водным $KHCO_3$ и снова водой, сушат Na_2SO_4 и упаривают в вакууме. Получают 74% сырого продукта с $[\alpha]_D^{25}$ — 11,7° (в EtOH). После кристаллизации из смеси этилацетат — петролейный эфир, т. пл. 117,5—118,5°, $[\alpha]_D^{22}$ — 13,1° (2%, в EtOH).

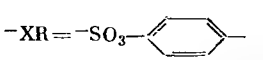
Предложено также применять виниловые эфиры ациламинокислот [111]. Они могут быть получены из ациламинокислот и винилацетата в присутствии $PdCl_2$. Виниловые эфиры устойчивы и могут быть выделены, например, в случае трифторацетиламинокислот, перегонкой в вакууме (виниловый эфир трифторацетил-L-валина кипит при 63°/0,05 *мм*). Конденсация с эфирами аминокислот или пептидов проводится при комнатной температуре (10 *час*) или 65° (40 *мин*). В качестве добавки, связывающей образующийся ацетальдегид, применяют малоновый или циануксусный эфиры.

К этим способам образования пептидной связи близко примыкает и метод, предложенный в 1961 г. Вудвордом и сотрудниками [112]. В качестве реагента применяют производные изоксазола типа X.



$$\rightarrow ZNHCH(R')CONHCH(R'')COOCH_3 + {}^{-}XRCOCH_2CONHC_2H_5,$$

где

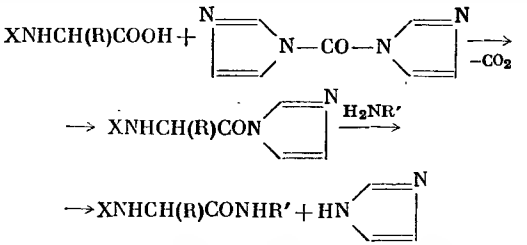


Для получения реагента X 5-фенилизоксазол [113] обрабатывают хлорсульфоновой кислотой при 102° в течение 30 *час*. Затем полученный сульфонилхлорид алкилируют

в CH_2Cl_2 триэтилоксониифторборатом. При этом образуется N-этил-5-(3′-хлорсульфонилфенил)-изоксазолий фторборат, который гидролизуют 2 н. водноспиртовой HCl при 20°. Полученное соединение (X) плавится с разложением при 207—208°.

Пептидный синтез проводят в ацетонитриле или нитрометане, добавляя к ациламиокислоте эквимолярное количество реагента X при 0°. После растворения суспензии раствор обрабатывают эфиром аминокислоты и размешивают несколько часов при 20°. Далее обрабатывают водой, причем амид β-кетокислоты растворяется в воде, а из органического слоя выделяют пептид.

Синтез пептидов с помощью азолов. В последние годы появился ряд работ по применению для синтеза пептидов производных гетероциклических оснований — имидазола, пиразола и триазола (см. обзор [114]). Андерсон и Пол [115, 116] предложили для этой цели карбонилдиимидазол. Это соединение образует с ациламиокислотами ацилимидазолы, легко реагирующие с аминами с выделением имидазола и образованием амида.

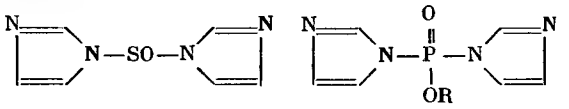


Карбонилдиимидазол получают следующим образом.

Типичная методика 206 [116]. N, N′-Карбонилдиимидазол. 2,2 *л* абсолютного бензола перегоняют над 10 *г* гидрида кальция, собирая дистиллят в тщательно высушенную 3-литровую трехгорлую колбу, содержащую 112 *г* (1,65 моля) имидазола. Затем суспензию нагревают и размешивают до полного растворения имидазола. В полученный раствор пропускают 38,6 *г* (0,4 моля) сухого фосгена (наблюдается выпадение осадка). Раствор продувают током сухого азота, охлаждают до 30° и оставляют стоять до тех пор, пока жидкость не станет прозрачной (от 1 до 24 *час*). Смесь нагревают до 50° и фильтруют. Фильтрат концентрируют в вакууме и быстро отсасывают выделившийся осадок. Его сушат в вакууме. Выход карбонилдиимидазола 50,4 *г* (77%), т. пл. 113—117°. Для определения процентного содержания чистого вещества в продукте реакции его гидролизуют и измеряют количество выделившегося CO_2. Обычно продукт содержит от 91 до 99,5% карбонилдиимидазола.

Типичная методика 207 [116]. Этиловый эфир карбобензоксиглицил-L-тирозина. К раствору 2,09 *г* (0,01 *моля*) карбобензоксиглицина в 10 *мл* сухого тетрагидрофурана прибавляют 1,62 *г* (0,01 *моля*) N,N′-карбонилдиимидазола. Через 0,5 *час* добавляют 2,09 *г* (0,01 *моля*) этилового эфира L-тирозина. Смесь оставляют на ночь, затем растворитель отгоняют и добавляют к остатку 50 *мл* 1 н. HCl. При охлаждении смеси образуется твердый осадок, который промывают водой, растирают с 5%-ным водным $NaHCO_3$, фильтруют и снова промывают водой, сушат и кристаллизуют из 50%-ного спирта. Выход 3,79 *г* (95%), т. пл. 127—128°, $[\alpha]_D^{25}$ + 18,2° (5 в EtOH).

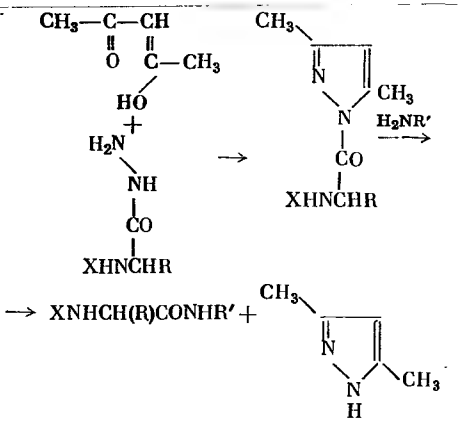
Рацемизация при этом способе образования пептидной связи обычно не превышает 0,5%. Карбонилдиимидазол с успехом применялся для синтеза различных пептидов, в том числе и изолейцин⁵-ангиотензинамида [117, 118]. Описано применение в пептидном синтезе и других производных имидазола — тионилдиимидазола [119] и фосфорилдиимидазолов [120].



Принципиально реакции с этими соединениями не отличаются от реакции с карбонилдиимидазолом.

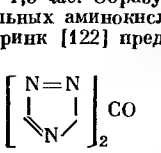
Рид [121] использовал для образования пептидной связи 3, 5-диметилпиразолпроизводные аминокислот. Эти соединения получались из гидразидов защищенных амино-

кислот действием ацетилацетона:



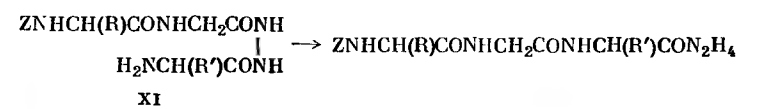
Реакция пиразольного производного с эфиром аминокислоты происходит в кипящем абсолютном спирте в течение 1—1,5 *час*. Образующийся диметилпиразол отгоняют в вакууме. Выходы в случае нейтральных аминокислот составляют 70—80%.

Наконец, Бейермаи и ван-деи-Бринк [122] предложили применять карбонил-ди-*s*-триазол:



Этот реагент получается при пропускании фосгена в раствор *s*-триазола в тетрагидрофуране, содержащем 1 эквивалент безводного пиридина. Он сохраняется над P_2O_5 при комнатной температуре в течение нескольких месяцев без заметного разложения. Синтез пептида ведут в растворе диметилформамида. Выходы обычно превышают 70%.

Другие методы синтеза пептидов. Бреннер и Хофер [123, 124] показали, что N-(карбобензоксиглицилглицил)-N′-(фенилаланил)-гидразины, а также другие *бис*-ацилгидразины типа XI в присутствии кислот перегруппировываются в гидразиды пептидов



XI

Последние в принципе вновь можно использовать для наращивания пептидной цепи.

При окислительной активации гидразидов действием иода, бромсукцинимида, бромацетамида или *трет*-бутилгипохлорита в присутствии аминокомпонента образуются пептиды [125—127].

Реакция идет следующим образом:

1) $RCONHNH_2 + I_2 + Et_3N \rightarrow RCONHNHI + Et_3N{\cdot}HI$,

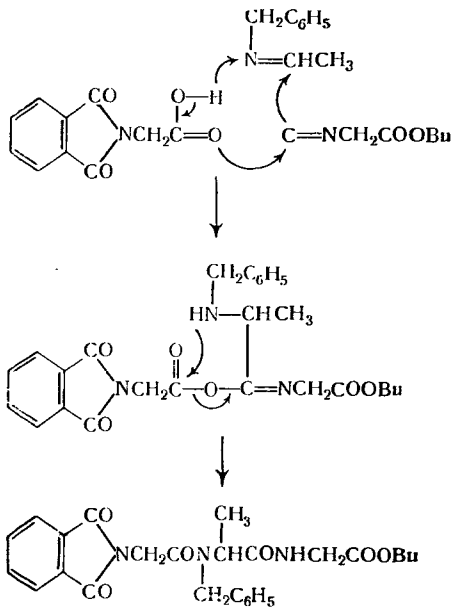
2) $RCONHNHI + Et_3N \rightarrow RCON{=}NH + Et_3N{\cdot}HI$,

3) $RCON{=}NH + I_2 + Et_3N \rightarrow (RC\overset{+}{O}N{\equiv}N)I^- + Et_3N{\cdot}HI$,

4) $(RC\overset{+}{O}N{\equiv}N)I^- + NH_2R' + Et_3N \rightarrow RCONHR' + Et_3N{\cdot}HI + N_2$.

В отсутствие аминосоставляющей образуются диацилгидразиды. Выходы пептидов в простых случаях достигают 80—90%, а рацемизация 1—1,5%.

Наконец, следует указать на любопытный метод, использующий реакцию Пассерини:



Подробный обзор по применению этой реакции опубликован в 1962 г. Ури [128].

ЛИТЕРАТУРА

1. Boissonnas R., Adv. Org. Chem., 3, 159 (1963).
2. Albertson N. F., Org. Reactions, 12, 157 (1962).
3. Meienhofer J., Chimia, 16, 385 (1962); Усп. химии, 33, 1465 (1964).
4. Wieland Th., Angew. Chem., 75, 539 (1963).
5. Weygand F., Hunger K., Chem. Ber., 95, 1 (1962).
6. Anderson G. W., McGregor A. C., J. Am. Chem. Soc., 79, 6180 (1957).
7. Kadar A. T., Stirling C. J. M., Proc. Chem. Soc., 1962, 363.
8. Stirling C. J. M., XIX Congr. Pure Appl. Chem. Abstr. Papers, Ser. A, 222 (1963).
9. Birkofer L., Bierwirth E., Ritter A., Chem. Ber., 94, 821 (1961).
10. Schwyzer R., Sieber P., Keppler H., Helv. Chim. Acta, 42, 2622 (1959).
11. Klee W., Brenner M., Helv. Chim. Acta, 44, 2151 (1961).
12. Carpino L., J. Am. Chem. Soc., 82, 2725 (1960).
13. Schwyzer R., Rittel W., Helv. Chim. Acta, 44, 159 (1961).
14. Nefkens G. H. L., Tesser G. I., Nivard R. J. F., Rec. trav. chim., 79, 688 (1960).
15. Weygand F., Koelicke J., Chem. Ber., 95, 1031 (1962).
16. Hajós A., Chem. Ber., 94, 2350 (1961).
17. Salomon F., J. prakt. Chem., [2], 7, 253 (1873).
18. Losse G., Zonnchen W., Ann., 636, 140 (1960).
19. Dane E., Dres F., Konrad P., Dockner T., Angew. Chem., 74, 873 (1962).
20. Sheehan J. C., Granda V. J., J. Am. Chem. Soc., 84, 2417 (1962).

21. Cosmatos A., Photaki I., Zervas L., Chem. Ber., 94, 2644 (1961).
22. Zervas L., Dilaris J., Chem. Ber., 89, 925 (1956).
23. Goendeler J., Holst A., Angew. Chem., 71, 775 (1959).
24. Fasold H., Steinkopf G., Turba F., Biochem. Z., 335, 1 (1961).
25. Birkofer L., Ritter A., Ann., 612, 22 (1958).
26. Taschner E., Wasielewski Cz., Ann., 640, 136 (1961).
27. Taschner E., Wasielewski Cz., Ann., 640, 139 (1961).
28. Taschner E., Wasielewski Cz., Ann., 640, 142 (1961).
29. Biernat J. F., Rzeszotarska B., Taschner E., Ann., 646, 125 (1961).
30. Theobald J. M., Williams M. W., Young G. T., Chimia, 14, 371 (1960); J. Chem. Soc., 1963, 1927.
31. Taschner E., Liberek B., Wasielewski Cz., Angew. Chem., 71, 743 (1959).
32. Taschner E., Liberek B., Proc. XVII Internat. Congr. Pure and Applied Chemistry, München, 1959.
33. Roeske R. W., Chem. and Ind., 1959, 1121.
34. Schwyzer R., VI Europ. Peptide Symposium, Athen, 1963.
35. Roeske R. W., J. Org. Chem., 28, 1251 (1963).
36. Anderson G. W., Chimia, 14, 371 (1960).
37. Anderson G. W., Callahan F. M., J. Am. Chem. Soc., 82, 3359 (1960).
38. Anderson G. W., частное сообщение.
39. Taschner E., Wasielewski Cz., Biernat J. F., Ann., 646, 119 (1961).
40. Taschner E., Chimiak A., Bator B., Sokolowska T., Ann., 646, 134 (1961).
41. Taschner E., Biernat J. F., Rzeszotarska B., Wasielewski Cz., Ann., 646, 123 (1961).
42. Vollmar A., Dunn M. C., J. Org. Chem., 25, 387 (1960).
43. Kappler H., Schwyzer R., Helv. Chim. Acta, 44, 1136 (1961).
44. Schwyzer R., Kappler H., Helv. Chim. Acta, 44, 1991 (1961).
45. Schwyzer R., Rittel W., Kappller H., Iselin B., Angew. Chem., 72, 915 (1960).
46. Sheehan J. C., Henery-Logan K. R., J. Am. Chem. Soc., 81, 3089 (1959).
47. Brockmann H., Bujard H., Naturwiss., 49, 515 (1962).
48. Sheehan J. C., Crnickshank P. A., J. Am. Chem. Soc., 78, 3677 (1956).
49. Schröder E., Lübke K., Ann., 655, 211 (1962).
50. Taschner E., Chimiak A., Biernat J. F., Wasielewski Cz., Sokolowska T., Ann., 663, 188 (1963).
51. Schwyzer R., Dietrich H., Helv. Chim. Acta, 44, 2003 (1961).
52. Schwyzer R., Iselin B., Feurer M., Helv. Chim. Acta, 38, 69 (1955).
53. Schwyzer R., Sieber P., Helv. Chim. Acta, 42, 972 (1959).
54. Kisfaludy L., Dualszky S., Bayer J., Chimia, 14, 368 (1960).
55. Anderson G. W., Blodinger I., Welcher A. D., J. Am. Chem. Soc., 74, 5309 (1952).
56. Schwarz H., Arakawa K., J. Am. Chem. Soc., 81, 5691 (1959).
57. Iselin B., Schwyzer R., Helv. Chim. Acta, 45, 1499 (1962).
58. Sondheimer E., Semeraro R. J., J. Org. Chem., 26, 1847 (1961).
59. Shields J. E., McGregor W. H., Carpenter F. H., J. Org. Chem., 26, 1491 (1961).
60. Nefkens G. H. L., Nature (London), 193, 974 (1962).
61. Rydon H. N., Willett I. E., «Peptides», Proc. V. European Symposium Oxford, 1962, p. 23.
62. Hofmann K., Magee M. Z., Lindenmann A., J. Am. Chem. Soc., 72, 2814 (1950).

63. Hofmann K., Lindenmann A., Magee M. Z., Njooru]l Hao Khan, J. Am. Chem. Soc., 74, 470 (1952).
64. Weygand F., Steglich W., Chem. Ber., 92, 313 (1959).
65. Hegedüs B., Angew. Chem., 71, 702 (1959).
66. Klieger E., Gibian H., Ann., 651, 194 (1962); 655, 195 (1962).
67. Schwyzer R., Angew. Chem., 71, 742 (1959).
68. Schwyzer R., Surbeck-Wegmann E., Dietrich H. Chimia, 14, 366 (1960).
69. Boissonnas R. A., Guttmann St., Jaquenoud P. A., Helv. Chim. Acta, 43, 1349 (1960).
70. Huguenin R. L., Boissonnas R. A., Helv. Chim. Acta, 44, 213 (1961).
71. Guttmann St., Helv. Chim. Acta, 44, 721 (1961).
72. Schwyzer R., Aung Tun Kyi, Helv. Chim. Acta, 45, 859 (1962).
73. Carpino L. A., J. Am. Chem. Soc., 79, 98, 4427 (1957).
74. Carpino L. A., J. Am. Chem. Soc., 81, 955 (1959).
75. Waldschmidt-Leitz E., Kühn K., Chem. Ber., 84, 381 (1951).
76. Milne H. B., Halver I. E., Ho D. S., Mason M. S., J. Am. Chem. Soc., 79, 637 (1957).
77. Kelly R. B., J. Org. Chem., 28, 453 (1963).
78. Kelly R. B., Daniels E. G., Hinman I. W., J. Org. Chem., 27, 3229 (1962).
79. Weinstock J., J. Org. Chem., 26, 3511 (1961).
80. Шемякин М. М., Усп. химии, 31, 269 (1962).
81. Heslinga L., Arens J. F., Rec. trav. chim., 76, 982 (1957).
82. Rieche A., Gross H., Chem. Ber., 92, 83 (1959).
83. Poduska K., Gross H., Chem. Ber., 94, 527 (1961).
84. Losse G., Demuth E., Chem. Ber., 94, 1763 (1961).
85. Zaoral M., Coll. Czech. Chem. Communs, 27, 1273 (1962).
86. Theodoropoulos D., Garopoulos J., J. Org. Chem., 27, 2091 (1962).
87. Schramm G., Wissman A., Chem. Ber., 91, 1073 (1958).
88. Erlanger B. F., Kokowsky N., J. Org. Chem., 26, 2534 (1961).
89. Zaoral M., Arnold Z., Angew. Chem., 72, 757 (1960).
90. Schüssler H., Zahn H., Chem. Ber., 95, 1076 (1962).
91. Muramatsu I., Nippon Kagaku Zasshi, 82, 83 (1961) (C. A., 1962, 56, 10273).
92. Nowak K., Siemion J. Z., Roczn. Chem., 35, 153 (1961).
93. Buzas A., Engell C., Fréon P., Compt. rend., 252, 896 (1961).
94. Sheehan J. C., Cruickshank P. A., Boshart G. L., J. Org. Chem., 26, 2525 (1961).
95. König H. B., Moosmüller F., герм. пат. 1070639 (C. A. 1961, 55, 11324).
96. Stelakatos G. C., J. Am. Chem. Soc., 83, 4222 (1961).
97. Micheel F., Haneke H., Chem. Ber., 95, 1009 (1962).
98. Dane E., Heiss R., Schäfer H., герм. пат., 1079648 (C. A., 1961, 55, 25784).
99. Sheehan J. C., Ann. N. Y. Acad. Sci., 88, 665 (1960).
100. Elliot D. F., Russel D. W., Biochem. J., 66, 49P (1957).
101. Bodanszky M., du Vigneaud V., J. Am. Chem. Soc., 81, 5688 (1959).
102. Goodman M., Stneben K. C., J. Am. Chem. Soc., 81, 3980 (1959).
103. Pless J., Boissonnas R. A., Helv. Chim. Acta, 46, 1609 (1963).
104. Kupryszewski G., Roczn. Chem., 35, 595 (1961).
105. Nefkens G. H. L., Tesser G. I., J. Am. Chem. Soc., 83, 1263 (196 1).
106. Nefkens G. H. L., Tesser G. I., Nivard R. J. F., Rec. trav. chim., 81, 683 (1962).
107. Nefkens G. H. L., Nature (London), 185, 309 (1960).
108. Weygand F., Steglich W., Chem. Ber., 93, 2983 (1960).
109. Sheehan J. C., Hlavka J. J., J. Org. Chem., 23, 635 (1958).

110. Panneman H. J., Marx A. F., Arens J. F., Rec. trav. Chim., 78, 487 (1959).
111. Weygand F., Steglich W., Angew. Chem., 73, 757 (1961).
112. Woodword R. B., Olofson R. A., Mayer H., J. Am. Chem. Soc., 83, 1010 (1961).
113. Claisen L., Stock R., Ber., 24, 130 (1891).
114. Staab H. A., Angew. Chem., 74, 407 (1962).
115. Anderson G. W., Paul R., J. Am. Chem. Soc., 80, 4423 (1958).
116. Paul R., Anderson G. W., J. Am. Chem. Soc., 82, 4596 (1960).
117. Anderson G. W., Chimia, 14, 370 (1960).
118. Paul R., Anderson G. W., J. Org. Chem., 27, 2094 (1962).
119. Wieland Th., Vogeler K., Angew. Chem., 73, 435 (1961).
120. Cramer F., Schaller H., Chem. Ber., 94, 1634 (1961).
121. Ried W., Czack A., Ann., 642, 133 (1961).
122. Beyerman H. C., van den Brink W. M., Rec. trav. Chim., 80, 1372 (1961).
123. Brenner M., Hofer W., Helv. Chim. Acta, 44, 1794 (1961).
124. Brenner M., Hofer W., Helv. Chim. Acta, 44, 1798 (1961).
125. Wolman Y., Gallop P. M., Patchornik A., J. Am. Chem. Soc., 83, 1263 (1961).
126. Wolman Y., Gallop P. M., Patchornik A., Ж. Всесоюзного хим. об-ва им. Менделеева, 1962, № 3, 355.
127. Wolman Y., Gallop P. M., Patchornik A., J. Am. Chem. Soc., 84, 1889 (1962).
128. Uri I., Angew. Chem., 74, 9 (1962).

ГЛАВА 6

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИЧЕСКОЙ И СТЕРИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ АМИНОКИСЛОТ

1. Общие соображения. Чистота химического вещества не является абсолютным понятием; она имеет значение лишь в сравнении с рядом стандартов. В чрезвычайно индивидуализированной области биохимического исследования эти стандарты изменяются в широких пределах, что зависит в большинстве случаев от субъективных взглядов исследователей, которые очень часто относятся к этим вопросам слишком легко. Терпимость биохимиков к материалам сомнительного качества может вызываться поспешностью, чрезмерным доверием к марке поставщика, незнакомством со строгими требованиями хорошей школы синтетической и аналитической органической химии, а также удобной, но часто обманчивой уверенностью, что, поскольку данное химическое вещество вводится в такой конгломерат веществ как животное, гомогенат ткани или бактериальная культура, чуть большее или меньшее количество примесей не принесет вреда. Однако это часто чревато серьезными последствиями. Еще одним фактором, иногда участвующим в проблемах использования так называемых тонких химикалиев, является вопрос стоимости, как показывает следующая выдержка из предисловия к недавно опубликованным стандартам на реактивы: «Потребители тонких химикалиев ограничиваются таким их качеством, которое они считают удовлетворительным для себя, и не требуют исключительно чистых реактивов, которые практически можно получить только ценой непропорционально больших финансовых затрат». Если учесть, что исследователю, возможно, придется затратить «непропорционально» большое количество своего времени на очистку материалов, требующих высокой чистоты, то можно предположить, что его собственное время ничего не стоит.

Критерии чистоты аминокислот включают установление аналитической, оптической и — в особых случаях аминокислот с двумя центрами асимметрии — стерической индивидуальности. Зачастую принято выражать высокую аналитическую чистоту синтетических аминокислот в виде содержания в них углерода, водорода и азота (в некоторых случаях также серы). Хотя расхождение аналитических данных для этих элементов обычно лежит в приемлемых пределах 1—2%, аминокислоты все же могут представлять собой смеси изомеров. Так, в 1900 г. Э. Фишер [1] объяснил некоторые странности в поведении синтетического тирозина присутствием в нем изомера, образующегося в ходе получения этой аминокислоты из неизученного изомера, содержащегося в исходном веществе. В другом случае при использовании сивушного масла как источника изоамилового спирта для получения альдегида, применяемого в синтезе лейцина по Штрекеру, было обнаружено, что этот спирт необходимо тщательно фракционировать для удаления из него примеси

d-амилового спирта во избежание загрязнения полученного DL-лейцина смесью L-изолейцина и D-*алло*-изолейцина (ср. с работой [2]). Действительно, в некоторых образцах продажного DL-лейцина, исследованных в нашей лаборатории, содержалось до 20% изолейцина, несмотря на близость анализов на C, H и N к теоретическим значениям.

Доказательства, вытекающие из данных элементарного анализа, хотя и необходимы, но сами по себе не являются достаточной гарантией химической индивидуальности. В тех случаях, когда рацемические аминокислоты используются для получения из них оптических изомеров посредством оптического разделения, должен быть проведен однозначный синтез, ведущий к единственному индивидуальному продукту. В некоторых случаях L-аминокислоты, легко получаемые из белковых гидролизатов или иных природных источников, можно превратить рацемизацией в DL-формы; этот метод, по-видимому, следует предпочесть для таких соединений, как глутаминовая кислота, лейцин и тирозин, где преимущества использования природных материалов подкрепляются и финансовыми соображениями, а также для таких аминокислот, как аргинин, гистидин и пролин.

Существующие методы синтеза аминокислот с двумя центрами асимметрии обычно ведут к смесям двух рацемических диастереомеров, причем нередко имеющиеся в продаже препараты «DL-изолейцина», «DL-треонина» или «DL-*алло*-треонина» на самом деле являются именно такими диастереомерными смесями неизвестного или по крайней мере неустановленного состава. В случае таких аминокислот, как цистин или α,ε-диаминопимелиновая кислота, методы синтеза также ведут к смеси рацемических и внутренне компенсированных, или *мезо*-форм в неизвестном соотношении. Для иллюстрации сказанного выше в табл. 108 [3—12] приведены некоторые примеры определения состава подобных смесей.

Окончательное установление химической индивидуальности рацемической аминокислоты независимо от того, содержит ли она один или два центра асимметрии, лучше всего осуществляется методами хроматографии на бумаге (ср. с работой [3]) и хроматографии в колонках (ср. с работами [4, 13]). За исключением таких необычных примеров, как диаминопимелиновая кислота [14], гистидин [15] и некоторые аминокислоты с ароматическими заместителями [16], которые при хроматографии на бумаге в особых условиях частично разделяются на оптические изомеры, испытуемые соединения должны давать на бумажных хроматограммах одно пятно при проявлении нингидрином и хорошо очерченный симметричный пик при элюировании с ионообменных смол. Хроматографией на бумаге редко удается различить оптические изомеры или диастереомеры, поэтому здесь приходится обращаться либо к колоночной хроматографии, либо к микробиологическим или энзимологическим методам. Более того, хроматографией на бумаге удается обнаружить лишь вещества, способные взаимодействовать с нингидрином, что ограничивает применимость этого метода.

Из чистого рацемата с помощью подходящих методов оптического разделения получают L- и D-изомеры, причем последующей задачей является установление оптической чистоты полученных изомеров, т. е. выяснение того, насколько успешно протекал процесс их разделения. При работе со сравнительно неспецифичными разделяющими агентами, например с алкалоидами, эффективность которых зависит от различий в растворимости образующихся диастереомерных солей, оценить успех разделения можно лишь после окончательного выделения изомеров и получения их характеристик. Напротив, при использовании в качестве разделяющих агентов оптически специфичных энзимов, таких, как почечная ацилаза I [17], можно количе-

Таблица 108

Определение стерического состава смесей диастереомеров

Смеси	Метод	Продукты
DL-Изолейцин + DL-*алло*-изолейцин [а]	Обработка оксидазой D-аминокислот [3]	Смесь энантиоморфных 2,4-динитрофенилгидразонов соответствующих α-кетокислот [в]
DL-Изолейцин + DL-*алло*-изолейцин	Элюирование из смолы дауэкс-50 [4]	Два раздельных пика
DL-Треонин + DL-*алло*-треонин [б]	Элюирование из смолы дауэкс-50 [4]	Два раздельных пика
L-Оксипролин + D-*алло*-оксипролин	Обработка оксидазой D-аминокислот [6]	Поглощение 0,5 моля кислорода на моль D-аминокислоты
L-Оксипролин + D-*алло*-оксипролин	Элюирование из смолы дауэкс-50	Два раздельных пика
β-Фенил-L-серин + *алло* β-фенил-L-серин	Обработка оксидазой L-аминокислот [7]	Смесь энантиоморфных миндальных кислот
D-Оксилизин + D-*алло*-оксилизин	Элюирование из смолы дауэкс-50 [4]	Два раздельных пика
DL-α-Аминотрикарбаллиловая кислота + DL-*алло*-α-аминотрикарбаллиловая кислота	Превращение действием HNO_2 в изолимонную кислоту с последующей обработкой дегидрогеназой изолимонной кислоты [8]	Щавелевоянтарная кислота из L-α-аминотрикарбаллиловой кислоты

[а] Поскольку из этих четырех изомеров лишь L-изолейцин поддерживает рост *Lactobacillus arabinosus*, соотношение изолейцина и *алло*-изолейцина можно определить микробиологическими методами [9—11].

[б] Поскольку из этих четырех изомеров только L-треонин способствует росту *Streptococcus faecalis*, соотношение треонина и *алло*-треонина можно определить обычными микробиологическими методами [5].

[в] *l*-Изомер получается из D-изолейцина, *d*-изомер—из D-*алло*-изолейцина. Если для получения α-кетокислот используется оксидаза L-аминокислот [12], то *d*-изомер будет получаться из L-изолейцина, а *l*-изомер — из L-*алло*-изолейцина.

ственно следить за ходом асимметрического гидролиза N-ацилированных DL-аминокислот с помощью манометрических измерений двуокиси углерода, выделяющейся при действии нингидрина; достижение максимальной степени гидролиза (50%) указывает на окончание реакции и подтверждает оптическую специфичность энзима, служащего для разделения. Однако эти данные могут и не обладать очень высокой степенью точности. Точность манометрических измерений углекислоты, образующейся при действии нингидрина на растворы чистых аминокислот, составляет 0,2—0,3% [18, 19]. В энзиматических реакциях эта ошибка может доходить до ±1%. Поэтому любой из изомеров может оказаться загрязненным 1% другого изомера, причем это нельзя обнаружить манометрическими определениями.

Обычный критерий оптической чистоты — оптическое вращение — обыкновенно бывает недостаточно чувствителен, чтобы обнаружить такую степень загрязненности. Это можно показать на простом примере. Если принять удельное вращение L-метионина (в виде 2%-ного раствора в 2 н. HCl) равным +23,0°, то угловое вращение в трубке длиной 2 *дм* будет равно +0,92°. При содержании же в L-метионине 1% D-формы угловое вращение, как можно ожидать, окажется равным +0,90°, а удельное вращение +22,5°. Даже при наличии хорошего поляриметра и при тщательно выполненных измерениях эта разница может остаться незамеченной. «Теоретического значения» оптического вращения, как известно, не существует, и принимается то значение, с которым соглашается большинство исследователей. Область соглашения может, однако, составлять несколько процентов. Поэтому трудно установить, является ли расхождение литературных значений вращения аминокислот следствием особенностей эксперимента в каждом отдельном случае или обусловлено загрязнением изомеров их оптическими энантиоморфными формами. Кроме того, величина оптического вращения в большей или меньшей степени зависит от концентрации раствора, концентрации добавок кислоты или щелочи, длины волны, а также от температуры. Однако до сих пор не существует соглашения относительно систематической стандартизации экспериментальных условий, за исключением почти повсеместного использования в качестве источника света D-линии натрия [6].

2. Применение оксидаз и декарбоксилаз. Более чувствительным критерием оптической чистоты, впервые предложенным Зеллером [20] и применимым в случае совпадения всех других критериев, является использование оптически специфичных оксидаз и декарбоксилаз аминокислот, активность которых может быть измерена в обычном респирометре с точностью по крайней мере до 0,1% [21]. Преимуществом использования этих энзимов является также возможность установления L- или D-конфигурации соответствующих изомеров в тех случаях, когда это не удается с помощью методов оптического разделения. Так, оптическое разделение не встречающейся в природе аминокислоты, для которой не имеется подходящих стандартов сравнения, с помощью оптически специфичного разделяющего агента, например почечной ацилазы I, может привести к изомерам, заведомо идентифицируемым как L- и D-формы [17, 22]. Если же такую аминокислоту разделять с помощью неспецифичного агента, например какого-нибудь алкалоида, стерическая идентификация изомеров может оказаться затруднительной. В известных случаях для такой идентификации могут быть вполне пригодны оксидазы.

В лаборатории авторов принята следующая методика определения оптической чистоты [21]. В четыре сосуда Варбурга помещают по 1000 *мкмолей* испытуемого изомера и в две из этих колб вносят по 1 *мкмолю* оптического энантиомера (в виде аликвотного количества в большем объеме). В эти четыре колбы, а также в две другие, служащие для холостых определений с одними энзимами, прибавляют по 1,5—2,5 *мл* буферного раствора. Последний состоит из 0,1 *М* раствора пирофосфата натрия с pH 8,1, содержащего оксидазу D-аминокислот, 0,1 *М* «трис»-буфера с pH 7,2, содержащего оксидазу L-аминокислот, и 0,1 *М* ацетатного буфера с pH 4,9, содержащего препараты декарбоксилазы. При работе с оксидазой L-аминокислот в главное отделение сосудов добавляют по 25 единиц кристаллической каталазы; в неочищенных препаратах оксидазы D-аминокислот обычно находится достаточное количество каталазы, поэтому нет необходимости вносить ее дополнительно. В боковые отводы всех шести сосудов прибавляют по 0,3—0,4 *мл* растворов энзимов.

Эти водные, почти насыщенные растворы состоят из оксидазы D-аминокислот свиных почек, оксидазы L-аминокислот змеиного яда или L-специфичной бактериальной декарбоксилазы. После установления равновесия (10—15 *мин*) колбы переворачивают и производят периодический отсчет показаний до полного завершения выделения или поглощения газа (15—120 *мин*). Десять микромолей оптически чистой аминокислоты, полностью чувствительной к энзиму, поглощают при нормальных условиях 112 *мкл* кислорода или выделяют 224 *мкл* двуокиси углерода.

Этот метод, очевидно, применим только в тех случаях, когда 1 *мкмоль* добавленного чувствительного изомера легко и количественно окисляется или декарбоксилируется в присутствии 1000-кратного количества устойчивого энантиомера. Как правило, при этом применяют значительное количество энзима. Согласно принятым критериям чистоты, а) 1000 *мкмолей* отдельно взятого L-изомера должны поглощать при обработке оксидазой D-аминокислот меньше одного микроатома кислорода, а в присутствии 1 *мкмоля* D-изомера инкремент поглощения должен составлять 1 микроатом кислорода, и б) 1000 *мкмолей* взятого отдельно D-изомера при действии оксидазы L-аминокислот либо декарбоксилазы должны соответственно поглощать менее 1 микроатома кислорода или выделять менее 1 *мкмоля* двуокиси углерода, но в присутствии 1 *мкмоля* добавленного L-изомера должен наблюдаться инкремент поглощения кислорода, равный 1 микроатому или такой же инкремент выделения двуокиси углерода. Оптическая чистота изомеров, отвечающих этим критериям, составляет более 99,9%. В то же время в случае L-аланина и L-серина с помощью препарата D-аминокислотной оксидазы свиных почек можно успешно установить присутствие 1 *мкмоля* D-формы в 10 000 *мкмолей* этих изомеров; поэтому можно утверждать, что образцы этих изомеров, полученные, как описано ниже, обладают оптической чистотой >99,99% [21]. При надлежаще изготовленных сосудах Варбурга нет больших оснований сомневаться в том, что в определениях оптической чистоты можно достигнуть еще большей чувствительности и устанавливать присутствие загрязняющих энантиомеров в количестве 0,01% и менее. В табл. 109 приведен список изомеров аминокислот, к которым в настоящее время применимы или неприменимы описанные выше критерии оптической чистоты [17, 21, 23].

Описанными энзиматическими методами определения оптической чистоты нельзя воспользоваться для изомеров аминокислот, энантиомеры которых при содержании в 1 *мкмоль* не окисляются названными оксидазами. Однако при более высоких содержаниях, например 10 *мкмолей*, многие из этих энантиомеров окисляются полностью или частично [6]. К ним относятся L-изомеры *алло*-треонина, β-фенилсерина, γ-аминобутирина, децилина, ундецилина и додецилина, чувствительные к оксидазе L-аминокислот *Crotalus adamanteus*, а также D-изомеры аспарагиновой и глутаминовой кислот, гистидина, орнитина, треонина, γ-аминобутирина, децилина и ундецилина, которые чувствительны к действию оксидазы D-аминокислот свиных почек. Лучше всего, однако, применять концентрацию субстрата в 10 *мкмолей* на 1000 *мкмолей* изомера, чистоту которого требуется установить, однако тем самым критерий чистоты последнего снижается до уровня 1%. Ясно, конечно, что увеличение количества испытуемого изомера до 10 000 *мкмолей* на 10 *мкмолей* изменяемого изомера даст критерий чистоты, равный 0,1%; в случае таких растворимых аминокислот, как L-аланин и L-серин, брали количества в 10 000 *мкмолей*, что позволило определить степень их оптической чистоты на уровне 0,01%. Использование таких количеств для менее растворимых аминокислот

Таблица 109

Применимость критерия оптической чистоты, более высокой чем 99,9%, при использовании некоторых оксидаз и декарбоксилаз [17, 21, 25]

Изомеры аминокислот, которые могут быть проанализированы		Изомеры аминокислот, которые не могут быть проанализированы	
L-изомер[а]	D-изомер[б]	L-изомер[а]	D-изомер[б]
Аланин	Аланин[в]	α-Аминоадипиновая кислота	β-Аминоаланин
β-Аминоаланин	α-Аминоадипиновая кислота	γ-Аминобутирин	γ-Аминобутирин
S-Бензилгомоцистеин	Аргинин[г]	Аспарагиновая кислота	Децилин
S-Бензилцистеин	Аспарагиновая кислота[д]	Гистидин	Додецилин
Бутирин	S-Бензилгомоцистеин	Глутаминовая кислота	Изовалин
Валин	S-Бензилцистеин	Децилин	*трет*-Лейцин
Гептилин	Бутирин	Додецилин	Оксипролин
Гомосерин	Валин	Изовалин	*алло*-Оксипролин
Изолейцин	Гептилин	*трет*-Лейцин	Пролин
алло-Изолейцин	Гистидин	Лизин	Серин
Каприлин	Глутаминовая кислота[д]	Орнитин	Треонин
Лейцин	Гомосерин	Треонин	*алло*-Треонин
Метионин	Изолейцин	Ундецилин	Ундецилин
Нонилин	*алло*-Изолейцин	β-Фенилсерин	β-Фенилсерин
Норвалин	Каприлин	*алло*-β-Фенилсерин	
Норлейцин	Лейцин		
δ-Оксинорвалин	Лизин[е]		
ε-Оксинорлейцин	Метионин		
Оксипролин	Нонилин		
алло-Оксипролин	Норвалин		
Пролин	Норлейцин		
Серин	δ-Оксинорвалин		
Тирозин	ε-Оксинорлейцин		
алло-Треонин	Орнитин[ж]		
Триптофан	Тирозин		
Фенилаланин	Триптофан		
α-Фенилглицин	Фенилаланин		
β-Циклогексилаланин	α-Фенилглицин		
α-Циклогексилглицин	*алло*-β-Фенилсерин		
Цистин	β-Циклогексилаланин		
Этионин	α-Циклогексилглицин		
	Цистин		
	Этионин		

[а] В качестве фермента применяется оксидаза D-аминокислот свиных почек.

[б] Кроме оговоренных случаев, в качестве фермента применяется оксидаза L-аминокислот *Crotalus odamanteus*.

[в] Используется оксидаза L-аминокислот *Bothrops jararaca*.

[г] Используется L-аргининдекарбоксилаза E. coli 7020

[д] Используется декарбоксилаза *C. welchii* SR 12.

[е] Используется L-лизиндекарбоксилаза *B. cadaveris* C578.

[ж] Используется L-орнитиндекарбоксилаза *C. septicum* P-III совместно с пиридоксальфосфатом.

может привести к осложнениям и, кроме того, потребовало бы респирометров значительно большего размера, чем обыкновенно применяемые. Так или иначе, в любом случае желательно придерживаться установленного критерия, а именно не считать изомер аминокислоты оптически чистым до тех пор, пока он не будет содержать менее 0,1% своего энантиомера.

Изыскание в других источниках новых оксидаз, более активных по отношению к изомерам, которые обычно устойчивы к яду *Crotalus adamanteus* или к оксидазе почек свиньи, позволило бы применить критерий чистоты и к этим соединениям. Так, оксидаза из *Crotalus terrificus* обладает заметным действием на L-треонин [24], а оксидаза из *Neurospora crassa* активна по отношению к L-α-аминоадипиновой [25] и L-диаминопимелиновой [26] кислотам; почки овцы обладают отчетливым действием на D-гистидин [25]. Эти результаты, впрочем, были получены при концентрациях субстрата, значительно превышающих 1 *мкмоль*, так что эффективность этих оксидаз при меньших концентрациях еще подлежит выяснению.

Для еще более высоких концентраций субстрата, например для 50 *мкмолей*, найдены при прочих равных условиях следующие скорости окисления [6] (в микромолях кислорода, поглощенного в 1 *час* на 1 *мг* азота): L-изолейцин — 117, L-*алло*-изолейцин — 14, L-треонин — 0,2, L-*алло*-треонин — 3,7, β-амино-L-аланин — 0,5 и L-серин — 0,5. При этом во всех случаях скорости окисления по абсолютной величине возрастают с увеличением концентрации субстрата. Так, для диастереомеров изолейцина отношение скоростей окисления L-изолейцина к L-*алло*-изолейцину при этой концентрации составляет 8 : 1 вместо 90 : 1 при концентрации каждого субстрата в 10 *мкмолей*. С фосфатным буфером вместо *трис*-(оксиметил)-аминометанового буфера (pH 7,2) получены следующие значения скоростей при концентрации каждой из аминокислот в 50 *мкмолей*: L-изолейцин — 46, L-*алло*-изолейцин — 14. Таким образом, в отличие от *трис*-буфера с фосфатным буфером наблюдается значительное замедление скорости окисления L-изолейцина, тогда как скорость окисления L-*алло*-изолейцина остается без изменения.

Меньший эффект имеет место при увеличении концентраций субстрата до 50 *мкмолей* в присутствии препарата D-аминокислотной оксидазы. В этих условиях скорости окисления равны для D-изолейцина 13,5, D-*алло*-изолейцина 8,7, D-α-аминоадипиновой кислоты 0,6, D-треонина 0,6 и D-*алло*-треонина 4,5. Здесь также значения скоростей для диастереомеров изолейцина оказываются ближе друг к другу при более высоких концентрациях субстрата, а для D-α-аминоадипиновой кислоты и D-треонина отмечается небольшая, но вполне определенная скорость окисления [6].

Эти данные в настоящее время не имеют ценности для определения оптической чистоты и приведены, чтобы проиллюстрировать особенности действия оксидаз и возможности их использования в будущем как для указанных целей, так и в аналогичных исследованиях.

Хотя сами L- и D-изомеры α,ω-диаминокислот, за исключением β-аминоD-аланина, мало подвержены действию изученных L- и D-аминокислотных оксидаз, их ω-ацильные производные окисляются весьма легко [27—29]. Для испытания чистоты таких свободных аминокислот может оказаться необходимым просто превратить их в соответствующие ω-ацетильные производные, ацетилируя их медные хелаты уксусным ангидридом в щелочном растворе (ср. с работой [30]); после удаления меди сероводородом получают свободную ω-ацетиламинокислоту, которую затем можно анализировать с помощью подходящей оксидазы по вышеописанной методике. Если при выделении ω-ацетиламинокислоты происходит частичное фракционирование оптически активного соединения от сопровождающей его примеси рацемата, ценность этого метода, естественно, снижается.

Оксидазы аминокислот специфичны оптически, но не химически (за редкими исключениями). Так, в данной связи их используют, чтобы установить присутствие в аминокислоте примеси той или иной оптической формы, которая при этом может и не быть оптическим изомером испытуемой кислоты; эта примесь может оказаться аминокислотой, чувствительной к действию фермента и обладающей благоприятной оптической конфигурацией. При сомнениях относительно природы изучаемого изомера можно для идентификации его сравнить бумажную хроматограмму с аналогичной хроматограммой, которую без проявления нингидрином и после удаления растворителя обрабатывают раствором оксидазы D- или L-аминокислот (ср. с работой [31]). Спустя несколько часов инкубации хроматограмму высушивают и проявляют нингидрином. Ослабление окраски, вызываемой нингидрином, указывает на оптическую природу изомера. С другой стороны, присутствие постороннего изомера, устойчивого к оксидазам, останется при этом незамеченным; аналогично не поддаются распознаванию этими методами очень малые примеси посторонней аминокислоты той же оптической конфигурации, что и испытуемая аминокислота. Все эти возможные загрязнения возникают из-за применения при оптическом разделении не вполне чистых исходных материалов. Поэтому, прежде чем начинать разделение оптических изомеров, необходимо быть совершенно уверенным в химической и стерической чистоте исходных веществ.

Оптическая чистота аминокислот, используемых в качестве исходных материалов синтеза пептидов, очевидно, является важным условием оптической однородности конечных продуктов; эта тема рассмотрена в гл. 5 (см. табл. 82, стр. 443) [32].

3. Методики анализа и идентификации

А. Температура плавления

При нагревании до известной температуры аминокислоты и их соли в общем разлагаются в пределах нескольких градусов, и поэтому данный критерий не имеет большого значения для идентификации или определения степени чистоты.

Б. Потеря в весе при высушивании

Из описанных аминокислот лишь пролин до известной степени гигроскопичен, в связи с чем его следует хранить в сухой атмосфере. При отсутствии специальных указаний определение летучих примесей в аминокислотах (обычно воды) производится по общей методике. Образец весом 2—5 *г* (измельченный, если необходимо) помещают в плоскую чашку (никелевую, платиновую или алюминиевую) с плотно прилегающей крышкой и высушивают в течение 2 *час* при температуре не выше 70° (предпочтительно при 60°) под уменьшенным давлением (не превышающим 50 *мм рт. ст.*). Чашку вынимают из шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Затем сушат еще в течение 1 *часа* и повторяют процесс до изменения в весе между двумя 1-часовыми высушиваниями, не превышающего 2 *мг*. За некоторыми исключениями потеря в весе аминокислот при сушке должна составлять не более 0,5%.

В. Элементарный анализ

Выполняется по стандартным методикам. Допускаемые относительные ошибки определения должны составлять для углерода не более 1%, для азота не более 3%, для золы не более 0,1% и для манометрического определения CO_2 с нингидрином по ван-Слайку не выше 2%.

Г. Оптическое вращение

Удельное вращение измеряют для образцов, предварительно высушенных до постоянного веса при 78° и 1 *мм* остаточного давления. Измерения проводятся для 1—2%-ных растворов при 24—28°. Значения удельного вращения вычисляют из соотношения:

Удельное вращение=(Наблюдаемое вращение × 100)/
/(Число граммов аминокислоты на 100 *мл* растворителя×
×Длина поляриметрической трубки в дециметрах).

При измерениях используют D-линию натрия. Замеры следует производить в затемненной комнате, предпочтительно двумя или более наблюдателями. Метод не обладает очень высокой точностью, а поэтому учитываются результаты, согласующиеся с данными большинства других наблюдателей. При этих измерениях вполне допустимы расхождения ±2%.

Д. Хроматография на бумаге

Растворители (см. табл. 110):

1. Смесь 88%-ный фенол — H_2O составляют 100 : 20 (по объему). Добавляют 15 *мг* % 8-оксихинолина. Хроматографию ведут в присутствии 100 *мл* 2 н. NH_4OH.

2. Бутанол-1 — уксусная кислота — вода = 450 : 50 : 125 (по объему).

3, а. Бутанол-2 : 3,3%-ный водный NH_3 = 150 : 60 (по объему); 3,3%-ный водный NH_3 приготовляют разбавлением 65 *мл* 14,8 н. NH_4OH водой до 500 *мл*.

3, б. Бутанол-2 : 3%-ный NH_3 = 150 : 50 (по объему) (в атмосфере водного NH_4OH = 1 : 6).

А. Растворитель 1, затем растворитель 2.

Б. Растворитель 1, затем растворитель 3.

В. Растворитель 2, затем растворитель 3.

Реагенты для цветных реакций.
Нингидрин : 0,25%-ный раствор в ацетоне
Изатин : 0,40%-ный раствор в ацетоне

Специальные реагенты.

Реактив Сакагучи. α-Нафтол — гипобромит. Растворяют 0,01% α-нафтола в спирте, содержащем 5% мочевины. Добавляют KOH до 5% непосредственно перед нанесением. Хроматограмму сушат на воздухе в течение нескольких минут и слегка опрыскивают раствором 0,8 *мл* Br_2 в 100 *мл* 5%-ного KOH.

Нитропруссид. Реактив 1. Растворяют 1,5 *г* нитропруссида натрия в 5 *мл* 2 н. H_2SO_4. Добавляют 95 *мл* метанола и 10 *мл* 28%-ного водного аммиака.

Таблица 110

Хроматография аминокислот на бумаге

Аминокислота	Растворители: для хроматограммы в одном направлении	Растворители: для хроматограммы в двух направлениях	Цветные реагенты	Специальные реагенты
Аланин	2	А и Б	Нингидрин	
Аргинин	2	А и Б	»	Реактив Сакагучи (красное окрашивание)
Аспарагин		А и Б	—	
Аспарагиновая кислота	1	А и Б	Нингидрин	
Валин	3	А и Б	»	
Гистидин	2	А и Б	»	Реактив Паули (красное окрашивание)
Глицин	1	А и Б	»	
Глутамин		А и Б	»	
Глутаминовая кислота	1	А и Б	»	
Дииодтирозин	3	В	»	$Ce(HSO_4)_4+NaAsO_2$
Изолейцин	3	Б	»	
Лейцин	3	Б	»	
Лизин	2	А и Б	»	
Метионин	2	А и Б	»	PtI_4
Монойодтирозин	3	В	»	$Ce(HSO_4)_4+NaAsO_2$
Оксилизин	2	А и Б		HIO_4+реактив Несслера
Оксипролин	2	А и Б	Нингидрин в изатин	Изатин и реактив Эрлиха
Пролин	2		Нингидрин и изатин	
Серин	1	А и Б	Нингидрин	Реактив Несслера и HIO_4
Тирозин	2	А и Б	»	Реактив Паули (оранжевое окрашивание)
Тироксин	3	В	»	$Ce(HSO_4)_4+NaAsO_2$
Треонин	1	А и Б	»	Реактив Несслера и HIO_4
Триподтиронин	3	В	»	$Ce(HSO_4)_4+NaAsO_2$
Триптофан	3	А и Б	»	Реактив Эрлиха
Фенилаланин	2	—	»	
Цистеин	2	—	»	Нитропруссид (красное окрашивание)
Цистин	2	—	»	Нитропруссид + NaCN (красное окрашивание)

раствор фильтруют и хранят в холодильнике. Реактив 2. Растворяют 2 *г* NaCN в 5 *мл* воды и разбавляют метанолом до 100 *мл*. Полученные растворы применяют только свежеприготовленными.

Реактив Паули. Раствор 1% сульфаниламида в 10%-ной HCl (по объему); 5%-ный раствор $NaNO_2$; наполовину насыщенный раствор Na_2CO_3. В дели-

тельную воронку емкостью 100 *мл* наливают 5 *мл* раствора сульфаниламида и 5 *мл* раствора $NaNO_2$, встряхивают 1 *мин*, прибавляют 50 *мл н*-бутанола. Встряхивают 1 *мин* и оставляют стоять в течение 4 *мин*. Декантируют бутанольный слой и оставшимся раствором опрыскивают хроматограмму или погружают ее в раствор. Хроматограмму сушат в токе воздуха и погружают в раствор Na_2CO_3. Имидазолы дают при этом глубокое вишнево-красное окрашивание.

Реактив Эрлиха. Применяют свежеприготовленную смесь 1 *г п*-диметиламинобензальдегида, 90 *мл* ацетона и 10 *мл* концентрированной соляной кислоты.

Четырехиодистая платина. Смешивают в указанном порядке: 4 *мл* 0,002 *М* раствора $PtCl_6^{2-}$, 0,25 *мл* 1 н. раствора KI, 0,4 *мл* 2 н. HCl и 76 *мл* ацетона. Высушенные хроматограммы погружают в раствор реагента. Цистин, цистеин, метионин и некоторые другие вещества с восстановительными свойствами дают белое пятно на красно-пурпурном фоне.

Реактив Несслера. Бумагу опрыскивают реактивом Несслера, почти насыщенным $NaIO_4$. Вследствие выделения аммиака серин и треонин дают при проявлении пятна желтого цвета.

Сульфат церия. Арсенит натрия (см. ниже при определении иодсодержащих соединений).

Изатин. Хроматограмму опрыскивают 0,40%-ным раствором изатина в ацетоне; после сушки на воздухе хроматограмму выдерживают 10 *мин* при 70—76° в атмосфере насыщенных водяных паров. Пролин и оксипролин дают синее окрашивание; цистин и тирозин также часто дают синее окрашивание. Глутаминовая и аспарагиновая кислоты дают пятна розового цвета, превращающиеся при стоянии в синие. Другие аминокислоты образуют розовые блекнущие пятна. Пипеколиновая кислота (пиперидинкарбоновая-2 кислота) также дает с изатином синее окрашивание.

Обнаружение иодсодержащих соединений с помощью бумажных хроматограмм

Реактивы

А. 10%-ный (по весу) раствор сульфата церия в 10%-ной H_2SO_4 (по объему).

Б. 5%-ный раствор (по весу) арсенита натрия.

В. 0,05%-ный раствор метиленового голубого.

Г. Аммиак (уд. вес 0,90).

Методика определения. Хроматограммы, размытые соответствующим растворителем, тщательно сушат в атмосфере, свободной от фенола. Затем хроматограмму слегка опрыскивают с обеих сторон смесью реактивов А и Б, взятых в отношении 2 : 3 (примечание: реактив следует применять сразу же после смешения). Бумагу сушат затем в токе воздуха (под вентилятором) в течение 5 *мин*, слегка опрыскивают реактивом В, сушат 5 *мин* и подвергают действию паров NH_3 (в аквариуме). Конец нейтрализации определяют по изменению окраски фона от бледно-пурпурной до ярко-желтой. После этого хроматограмму снова сушат.

Результаты. Иодсодержащие соединения проявляются в виде ярко-синих пятен на желтом фоне. Минимально определяемые количества — 0,1—0,2 *мкг* (в пересчете на иод).

Е. Инфракрасная спектроскопия

Инфракрасные спектры можно использовать для идентификации аминокислот, а также в некоторых случаях для определения небольших количеств примесей, которые трудно обнаружить посредством хроматографии на бумаге. Таким путем определяют, например, примесь DL-лейцина (полоса при 11,78 *мк*) в смеси D-*алло*-изолейцина и L-изолейцина, L-изолейцина и D-*алло*-изолейцина (полоса при 12,48 *мк*) в DL-лейцине и DL-*алло*-треонина (полосы при 9,95 или 11,99 *мк*) в DL-треонине. Минимально определяемые количества составляют примерно 0,5% для пары лейцин — изолейцин и около 2% для *алло*-треонина в треонине.

Ж. Ультрафиолетовая спектроскопия (тирозин и триптофан)

Тирозин и триптофан обладают характерными максимумами поглощения в ультрафиолетовой области. Коэффициенты молярной экстинкции для тирозина в кислом растворе составляют 1340 при 274,5 *ммк* и 8200 при 223,0 *ммк* (максимумы поглощения) и, кроме того, на кривой поглощения в этой области имеется минимум при 245,0 *ммк* с коэффициентом молярной экстинкции 170; соответствующие значения в щелочном растворе равны 2330 при 293,5 *ммк* и 11 050 при 240,0 *ммк* (максимумы) и 1000 при 269,5 *ммк* (минимум). Для триптофана как в кислом, так и в щелочном растворах коэффициенты молярной экстинкции максимумов поглощения составляют соответственно 4550 и 5550 при 287,5 и 278,0 *ммк*; коэффициент молярной экстинкции для минимума поглощения (242,0 *ммк*) равен 1930.

З. Оксидаза D-аминокислот

Большинство аминокислот, выделяемых из белков, можно получить в виде чистых L-форм. Заметным исключением, однако, является L-цистин, поскольку он часто бывает загрязнен не только L-тирозином (который удаляют обработкой углем во время перекристаллизации), но также D- и *мезо*-цистином в результате частичной рацемизации, происходящей во время гидролиза исходного белка кипячением с соляной кислотой. По опыту ряда лабораторий продажный L-цистин содержит 5—15% D-цистина. Помимо случая L-цистина, с помощью оксидазы D-аминокислот можно установить присутствие D-изомера также в L-изомерах оксипролина, пролина, лейцина, фенилаланина, тирозина и триптофана. Методика определения описана в разделе 2.

И. Перекристаллизация аминокислот

Данные сведены в табл. 111 [19]

4. Краткие выводы. Применение при биологических исследованиях рацемических аминокислот приводило во многих случаях к неоднозначной интерпретации результатов. Во многих литературных источниках с сожалением отмечалось, что использование рацемических аминокислот для синтеза пептидов приводило к эпимерным смесям неизвестного состава; это довольно подробно обсуждалось в разделе 7 гл. 5. В более тщательно выполненных исследованиях этого же времени избегали применения рацемических аминокислот, кроме тех случаев, где оптическая конфигурация аминокислот не играет никакой роли. В большинстве современных исследований как био-

Таблица 111

Перекристаллизация аминокислот

Аминокислота	Растворитель 1	*мл/г* аминокислоты	Растворитель 2	*мл/г* аминокислоты	Растворитель для промывки
DL-Аланин	Вода	3,0	95%-ный спирт	6,0	95%-ный спирт
L-Аргинин·HCl	0,4 н. HCl	0,5	То же	1,0	80—95%-ный спирт
L-Аспарагин·H_2O	Вода		—		95%-ный спирт
DL-Аспарагиновая кислота	»	9,5	95%-ный спирт	20,0	Ледяная вода
DL-Валин	»	7,0	То же	7,0	50—95%-ный спирт
L-Гистидин × × HCl·H_2O	0,2 н. HCl	1,0	—		75—95%-ный спирт
Глицин	Вода	2,3	95%-ный спирт	1,0	35—95%-ный спирт
L-Глутаминовая кислота	Вода (80°)	12,0	—		50—100%-ный метанол
L-Дииодтирозин	Вода		—		95%-ный спирт
L-Изолейцин + D-*алло*-изолейцин	»		—		То же
L-Лейцин	»	24,0	95%-ный спирт	24,0	50—95%-ный спирт
DL-Лейцин	»	30,0	—		25—100%-ный метанол
L-Лизин·HCl	»	1,0	95%-ный спирт	4,0	60—95%-ный спирт
DL-Метионин	»	9,0	То же	9,0	50—95%-ный спирт
L-Оксипролин	Смесь 50% метанола и 50% спирта	3,1	—		Метанол
L-Пролин	Абс. спирт	15,0	—		Абс. спирт
DL-Серин	Вода	13,0	95%-ный спирт	4,5	30—95%-ный спирт
L-Тирозин	»	200,0	—		Ледяная вода
DL-Тирозин	»	220,0	—		« «
DL-Треонин	»	2,5	95%-ный спирт	20,0	95%-ный спирт
L-Триптофан	65%-ный спирт	42,0	—		95%-ный спирт
L-Фенилаланин	Вода				95%-ный спирт
DL-Фенилаланин	«	23,0	95%-ный спирт	15,0	95%-ный спирт
L-Цистеин	H_2S-вода		—		95%-ный спирт
L-Цистин	1,5 н. HCl	18,0	0,6 н. NH_4OH до pH 5		Горячая вода

логического направления, так и в области органического синтеза наблюдается все большее стремление к использованию оптически чистых аминокислот. В связи с этим приобретает значение проблема оптической чистоты. Так, в синтезе пептидов из оптически активных аминокислот оптическая чистота полученного пептида, весьма вероятно, является отражением оптической чистоты исходных аминокислот. К тому же, если перекристаллизация не снижает содержания примеси (а скорее увеличивает его), то в синтезированном пептиде содержание нежелательных антиподов будет даже больше, чем в исходной аминокислоте. Этот вопрос рассмотрен в разделе 25 гл. 5; ср. с табл. 82 (стр. 443). Уже давно изучается возможность влияния D-аминокислот на ускорение роста живых организмов в присутствии заметных количеств значительно более эффективных L-изомеров.

В конечном итоге все сводится к вопросу, насколько чистое вещество действительно чисто? Прагматический ответ гласил бы: чистым следует признать такое состояние, при котором возможные примеси не мешают изучаемой химической реакции или биологическому процессу. Однако не всегда известно, насколько безразличны для изучаемого объекта подобные примеси, а характер влияния примесей можно с уверенностью оценить лишь после тщательного исследования наиболее чистого материала сравнительно с менее чистым. Поэтому, если в качестве контрольного безусловно должно использоваться чистое вещество, то его также можно и применять в первую очередь. При многих исследованиях присутствие в препарате L-аминокислоты менее 1% D-изомера можно считать совершенно безвредным. Однако при введении в организм человека 2 *г* L-фенилаланина, содержащего всего 0,6% D-антипода, более половины фенилаланина, выделившегося с мочой в первый час, имело D-конфигурацию [33]; примерно такие же результаты были получены при введении в организм 5—10 *г* L-фенилаланина, содержащего около 0,1% D-формы. Эти данные не вызывают больших сомнений, поскольку сведения о концентрации фенилаланина в моче, найденные посредством хроматографии на бумаге, были впоследствии подтверждены с помощью исключительно L-направленной декарбоксилазы фенилаланина [33]; применение одного хроматографического метода, нечувствительного к оптическим факторам, очевидно, привело бы к слишком завышенным результатам, если не принимать во внимание присутствия во вводимом в организм L-фенилаланине сравнительно небольшого количества D-фенилаланина. Этот пример в высшей степени оптически специфичного механизма концентрирования нежелательных изомеров, действующего в почках, хорошо отвечает на вопрос первой фразы данного абзаца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fischer E., Ber., 33, 3638 (1900).
2. Hegsted D. M., Wardwell E. D., J. Biol. Chem., 153, 167 (1944).
3. Greenstein J. P., Levintow L., Baker C. G., White J., J. Biol. Chem., 188, 647 (1951).
4. Piez K. A., J. Biol. Chem., 207, 77 (1954).
5. Shulgin A. T., Lien O. G., Gal E. M., Greenberg D. M., J. Am. Chem. Soc., 74, 2427 (1952).
6. Greenstein J. P., Birnbaum S. M., Otey M. C., J. Biol. Chem., 204, 307 (1953).
7. Fones W. S., Arch. Biochem. Biophys., 36, 486 (1952).
8. Greenstein J. P., Izumiya N., Winitz M., Birnbaum S. M., J. Am. Chem. Soc., 77, 707 (1955).

9. Hegsted D. M., J. Biol. Chem., 157, 741 (1945).
10. Hood D. W., Lyman C. M., J. Biol. Chem., 186, 195 (1950).
11. Meister A., J. Biol. Chem., 195, 813 (1952).
12. Meister A., J. Biol. Chem., 190, 269 (1951).
13. Moore S., Stein W. H., J. Biol. Chem., 211, 893, 907 (1954).
14. Rhuland L. E., Work E., Denman R. F., Hoare D. S., J. Am. Chem. Soc., 77, 4844 (1955).
15. Weichert R., Acta Chem. Scand., 9, 547 (1955).
16. Dalgliesh C. E., J. Chem. Soc., 1952, 3940.
17. Birnbaum S. M., Levintow L., Kingsley R. B., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 194, 455 (1952).
18. Van Slyke D. D., Dillon R. T., MacFadyen D. A., Hamilton P., J. Biol. Chem., 141, 627 (1941).
19. Dunn M. S., Rockland L. B., Advances in Protein Chem., 3, 296 (1947).
20. Zeller E. A., Advances in Enzymol., 8, 459 (1948).
21. Meister A., Levintow L., Kingsley R. B., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 192, 535 (1951).
22. Birnbaum S. M., Fu S.-C. J., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 203, 333 (1953).
23. Birnbaum S. M., Greenstein J. P., Arch. Biochem. Biophys., 39, 108 (1952).
24. Winitz M., Bloch-Frankenthal L., Izumiya N., Birnbaum S. M., Baker C. G., Greenstein J. P., J. Am. Chem. Soc., 78, 2423 (1956).
25. Bender A. E., Krebs H. A., Biochem. J., 46, 210 (1950).
26. Work E., Biochim. Biophys. Acta, 17, 410 (1955).
27. Neuberger A., Sanger F., Biochem. J., 38, 119 (1944).
28. Zeller E. A., Maritz A., Helv. Chim. Acta, 28, 365 (1945).
29. Fu S.-C. J., Rao K. R., Birnbaum S. M., Greenstein J. P., J. Biol. Chem., 199, 267 (1952).
30. Neuberger A., Sanger F., Biochem. J., 37, 515 (1943).
31. Synge R. L. M., Biochem. J., 44, 542 (1949).
32. Greenstein J. P., Advances in Protein Chem., 9, 121 (1954).
33. Gartler S. M., Tashian R. E., Science, 126, 75 (1957).

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

L-Абрин, нахождение в природе 35
Азасерин, нахождение в природе 37, 128
  определение конфигурации 128
  удельное вращение 128
  установление строения 128
Азидный метод синтеза пептидов 312, 313, 315, 446—464
α-Азидоацильный метод синтеза пептидов 324
Азиды ациламинокислот 312, 313, 315, 446—464
Азлактоны 330—347, 350
  галогенгидраты 337
  номенклатура и строение 330
  оптически активные 342, 343
  применение
    в синтезе аминокислот 55, 56
    в синтезе пептидов 343, 344
Азлактоны насыщенные 330
  ассиметрия C_4-атома 338
  применение в синтезе пептидов 343, 344
  рацемизация 338—343
  синтез 335—338
  УФ-спектр поглощения 343
Азлактоны ненасыщенные 330
  восстановление до насыщенных азлактонов 338, 344
  изомеры, *цис-* и *транс-* 330, 334, 335
  применение в синтезе
    дегидропептидов 344—350
    пептидов 330—347, 350
  реакционная способность 330—332
  синтез 332—335
Активированные эфиры 418—536
L-Аланин-L-аланилглицин, синтез 376, 377
L-Аланил-L-аланин 327
  N-карбобензокси-, бензиловый эфир 456, 457
  N-карбобензокси-, гидразид 457
DL-Аланилбензоат, N-карбобензокси- 469
β-Аланилметилгистидин, см. Ансерин
Аланин
  вкус D- и L-изомеров 192
  выделение из белковых гидролизатов 8
  дисперсия оптического вращения 160, 164
  корреляция конфигурации
    с глюкозамином 209, 210
    с молочной кислотой 198, 211, 212
  медный комплекс 166, 167
    дисперсия оптического вращения 166, 167
    молекулярное вращение 167
  молекулярное вращение 136
    гидантоинового производного 144
    различных производных 198
  определение
    конфигурации 113—115, 123
    оптической чистоты 781
  оптическая инверсия 195
  оптическое разделение 65, 70, 75, 78, 81—83, 87, 88, 177, 180, 183
  синтез 113, 123, 124
  удельное вращение при различных длинах волн 160, 162
  чувствительность к различным оксидазам D- и L-аминокислот 187
  этиловый эфир
    температура кипения 295
    полимеризация 293, 294
D-Аланин, нахождение в природе 24
L-Аланин, N-карбобензокси- 392
β-Аланин, нахождение в природе 37
Алкилгидантоины, применение в синтезе аминокислот 49
Аллиин, см. S-Аллил-L-цистеинсульфоксид
Аллилглицин
  молекулярное вращение 136
  определение конфигурации 190
  оптическое разделение 88
  превращение в норвалин 124, 125
S-Аллил-L-цистеинсульфоксид, нахождение в природе 33
D-Аллооксипролин, бетаин, см. Турицин
Амидаза почечная
  применение
    для оптического разделения аминокислот 82—91
    при определении оптической конфигурации 189, 190
  специфичность 84, 189, 190
  чувствительность амидов различных аминокислот к гидролитическому действию ее 84, 88—91
Амидомицин, нахождение в природе 285
Амиды ациламинокислот и ацилпептидов 626—631
α-Аминоадипиновая кислота
  вкус D- и L-изомеров 192
  дисперсия оптического вращения 163, 164
  молекулярное вращение 136
  нахождение в природе 23, 26
  определение

конфигурации 190
оптической чистоты 781, 782
оптическое разделение 88
чувствительность к асимметрическому ферментативному окислению 187
β-Аминоаланин
дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
нахождение в природе 27
определение
конфигурации 113, 150
оптической чистоты 781, 782
оптическое разделение 70, 88
синтез 113
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
Аминоацетонитрил, сульфат, синтез 381
α-Аминоацилдегидроаминокислоты, синтез 356—358
γ-Аминобутирин
дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
нахождение в природе 27, 124
определение
конфигурации 124, 150
оптической чистоты 780
оптическое разделение 88
синтез 124
удельное вращение 124
хлоргидраты 151
α-Амино-*н*-валериановая кислота, см. Норвалин
α-Амино-*н*-гептилован кислота, см. Гептилин
п-Аминогиппуровая кислота 481
α-Амино-δ-гуанидиновалерианован кислота, см. Аргинин
α-Амино-β,γ-диоксимасляная кислота
корреляция конфигурации со сфингозином 261
определение конфигурации 261
парциальное молекулярное вращение 146
удельное вращение 255, 261
α-Амино-*н*-децилова кислота, см. Децилин
α-Амино-*н*-додециловая кислота, см. Додецилин
4-Амино-3-изоксазолинон, см. Циклосерин
β-Аминоизомасляная кислота, нахождение в природе 38
Аминокислоты
ацетилирование D-изомеров *in vivo* 185
вкус L- и D-изомеров 192
диастереоизомеры, методы разделения 94—97
классификация и строение 7—11
конфигурационные отношения, см. Конфигурация; Корреляция
конфигурации 12—15
критерии действительного нахождения в природе 20—39
в пептидах или белках 20, 21, 39
в свободном состоянии 39
критерии чистоты 776—779
методика перекристаллизации 788
молекулярное вращение 136, 137, 140
гомологического ряда 151
медных комплексов 167
эмпирическая связь со строением 173—175
нахождение в природе
в белках 7—11
D-изомеров 23, 24
в небелковых источниках 24—38
номенклатура 15—20
официальные правила 16—20
прежняя система 15
система Воля — Фрейденберга 16
система Мак-Касленда 19, 20
определение 7
определение оптической и стерической чистоты 776—789
оптическая инверсия D-изомера *in vivo*
в ацетил-L-производное 184, 185
в L-антипод 182, 184, 185
оптическое разделение 62—98
биологическими методами 74—87, 88—91
посредством асимметрического ферментативного гидролиза 74, 80—91
посредством асимметрического ферментативного окисления или декарбоксилирования 74—78
посредством асимметрического ферментативного синтеза 74, 78—80
селективным метаболизмом в организме животных 74, 75
с помощью растительных ацилаз 87
фракционной кристаллизацией 63, 64
хроматографией на бумаге 93, 96, 97
через диастереомерные производные 74
через диастереоизомерные соли 64—74
парциальные доли молекулярного вращения 139—143
парциальное удельное вращение 165, 166
стереохимия 11—15
токсичность и оптическая конфигурация 193
удельное вращение при различных длинах волн 160—163
усвоение в кишечнике 193
чувствительность к ферментативному расщеплению
декарбоксилазами аминокислот 74—76
оксидазами аминокислот 76—78, 186—189
α-Амино-*п*-масляная кислота, нахождение в природе 36
α-Амино-*н*-ноновая кислота, см. Нонилин
α-Амино-γ-оксиадипиновая кислота, нахождение в природе 26
α-Амино-γ-оксивалериановая кислота, лактон, циклизация в дикетопиперазин 306
α-Амино-β-окси-*н*-капроновая кислота, оптическое разделение 81; см. также β-Оксинорлейцин
α-Амино-γ-оксипимелиновая кислота, нахождение в природе 26
α-Амино-β-оксистеариновая кислота, определение конфигурации 258
α-Аминопимелиновая кислота
нахождение в природе 26

определение конфигурации 190
оптическое разделение 88
α-(или 2)-Аминопропионовая кислота, см. Аланин
2-Аминосахара, корреляции конфигурации с аминокислотами и углеводами 206—209
Аминоспирты, применение в синтезе аминокислот 58
α-Аминостеариновая кислота, определение конфигурации 257, 258
3-Амино-L-тирозин
синтез 123
удельное вращение 123
α-Аминотрикарбаллиловая кислота — *Алло*-аминотрикарбаллиловая кислота 241—246
деаминирование в изолимонную кислоту 241
корреляция конфигурации
с изолимонной кислотой 241—246
с пирролидоидикарбоновой кислотой 244
молекулярное вращение 243, 244
определение
конфигурации 240—246
стерического состава 778
парциальное молекулярное вращение 243
разделение нормальной и аллоформы 94
α-Амино-β,β,β-триметилпропионовая кислота; см. *трет*-Лейцин
Аминоуксусная кислота; см. Глицин
α-Амино-*п*-ундециловая кислота, см. Ундецилин
α-Амино-β-фенилмасляная кислота, нахождение в природе 28
α-Аминофенилуксусная кислота, см. также α-(или C-)-фенилглицин
оптическая инверсия 205
оптическое разделение 183
продукты метаболического расщепления 185
α-Амино-β-хлорпропионовая кислота
восстановление до аланина 113
превращение
в β-аминоаланин 113
в цистин 113
синтез 113
удельное вращение 113
1-Аминоциклопропанкарбоновая-1-кислота, нахождение в природе 36
Ангидрид L-лейцил-L-пролина, нахождение в природе 284
Ангидриды ациламинокислот 584
Ангидриды Лейкса, см. N-Карбоксиангидриды α-аминокислот
бис-Ангидро-L-цистинил-L-цистин 307
Ангиотонин, нахождение в природе 283
Ансерин
нахождение в природе 127, 283
определение конфигурации 127
удельное вращение 127
установление строения 127, 128
Антеизо-кислоты
молекулярное вращение 221
стереохимическая конфигурация 221
Аргиназа, специфичность 80, 81
«Аргиниларгинин» 295, 296
L-Аргинил-L-аргинин, дипикролонат 697, 698
L-Аргинил-L-глутаминовая кислота, синтез 698
N_α-карбобензокси-, дибензиловый эфир 698
L-Аргинил-N^ω-карбобензокси-L-аргинин,
N^α,N^ω,-трикарбобензокси-, бензиловый эфир 560
Аргицин
выделение из рога 8
дисперсия оптического вращения 160, 162, 163
метиловый эфир 295, 296
молекулярное вращение 136
неустойчивость к щелочам 119
определение конфигурации 122
оптическое разделение 78, 81, 88
превращение
в орнитин 23, 81
в пролин 122
рацемизация 338—341
удельное вращение при различных длинах волн 160, 162, 163
влияние концентрации 131
чувствительность к оксидазе L- и D-аминокислот 187
L-Аргинин
N^α,N^ω-Дикарбобензокси- 558
N^α,N^ω-дикарбобензокси- 556—559
N^α,N^ω-ди-*п*-нитрокарбобензокси-556
N-карбобензокси- 556
N^ω-карбобензокси-, бензиловый эфир 560
N^α-*п*-нитрокарбобензокси-, хлорангидрид 555
N^α,N^ω,N^ω-трикарбобензокси- 556—559
Арил-, алкилмалоновые кислоты, азиды и полуэфиры, применение в синтезе аминокислот 53
Артеренол, конфигурация 97
Аспарагин
вкус D- и L-изомеров 192
выделение из эдестина 8
медный комплекс, дисперсия оптического вращения 168
молекулярное вращение 136
определение конфигурации 113—114
оптическое разделение 63, 74
полимеризация 286, 292, 293
превращение
в β-аминоаланин 113
в аспарагиновую кислоту 113
в серин 114
реакция с формальдегидом 516
удельное вращение, влияние температуры 130
L-Аспарагинилглицин, N-карбобензокси-, бензиловый эфир 488
L-Аспарагинил-L-нитро-L-аргинил-L-валил-L-тирозин, N-карбобензокси-511
L-Аспарагинил-L-нитроаргинил-L-валил-L-тирозил-L-изолейцил-L-гистидил-L-пролил-L-фенилаланин, N-карбобензокси-, метиловый эфир 511

Аспарагиновая кислота
вкус- L- и D-изомеров 192
выделение из коиглутина и легумина 8
гидантоиновое производное 144
дисперсия оптического вращения 158, 160, 162, 163
корреляция конфигурации с яблочной кислотой 211, 212
медный комплекс, дисперсия оптического вращении 168
определение
конфигурации 113—115, 116, 117, 119, 124, 152, 153
оптической чистоты 780, 781
оптическая инверсия 204
оптическое разделение 65, 70, 78, 88, 177, 183
полимеризация 286, 292, 293
синтез 113, 114, 115, 116, 117, 119
стереоспецифическое действие дрожжей 180
удельное вращение при различных длинах волн 160, 162, 163
влияние концентрации 131
влияние температуры 130
чувствительность к оксидазам L- и D-аминокислот 187
L-Аспарагиновая кислота, γ-фосфат 720
Аспарагиновые кислоты, N-ацил-, ангидриды 584
Ацетаминоакриловая кислота, синтез 364
α-Ацетаминоакриловая кислота, синтез 364
α-Ацетамино-α-аминопропионовая кислота
самопроизвольный гидролиз в воде 353
разложение экстрактом почек крысы 352, 353
Ацетиламинокислоты
нахождение в природе 280
оптическое разделение на крахмале 97
температуры плавления 88—91
Ацетиласпарагиновая кислота, нахождение в природе 281
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-аминокислоты
производные, молекулярное вращение 150
синтез 347
Ацетил-*бис*-(дегидрофенилаланил)-глицин, синтез 347
Ацетилглутаминовая кислота 281
Ацетилдегидроаланин, УФ-спектр поглощения 361
Ацетилдегидроаминомасляная кислота, УФ-спектр поглощения 361
Ацетилдегидровалин, УФ-спектр поглощенин 361
Ацетилдегидролейцин, УФ-спектр поглощенин 361
Ацетилдегидротирозин, УФ-спектр поглощения 362
Ацетилдегидрофенилаланилглицин, синтез 346
Ацетилдегидрофенилаланилдегидрофенилаланин, азлактон, синтез 346
Ацетилдегидрофенилаланин, производные, молекулярное вращение 150
Ацетиллейцин, синтез 340
N-Ацетил-α-метилсерин, чувствительность к ферментативному гидролизу 93
Ацетилтирозин, УФ-спектр поглощения 362
Ацетил-γ-фенил-L-бутирин 184
Ацилаза I почечная
влияние на активность
длины цепи 87
ионов кобальта 84
характера ацильных заместителей 85, 86
применение при определении оптической конфигурации 189, 190, 213, 214, 223
при оптическом разделении аминокислот 82—91
специфичность 189, 190, 83—87, 92—93
чувствительность к гидролитическому действию ее
N-ацил-α-алкиламинокислот 92, 93
различных N-ациламинокислот 88 91
Ацилаза II почечная, специфичность 84
Ацилаза III почечная 84
Ацилазы
в *Aspergillus Penicillium* 87
получение и специфичность 87
применение при оптическом разделении аминокислот 87
в растениях 87
в тканях млекопитающих 82
в японской такадиастазе, применение при оптическом разделении аминокислот 87
Ациламиноакриловые кислоты, см. Дегидропептиды
Ациламинокислоты
азиды, применение в синтезе пептидов 312, 313, 315, 446—464
амиды 626—631
рацемизация 338—342
хлорангидриды
применение в синтезе пептидов 312—315, 464—468
синтез 313, 464, 465, 467
Ациламиномалоновая кислота, эфиры, применение в синтезе аминокислот 58—60
Ациламиноциануксусная кислота, эфир, применение в синтезе аминокислот 59, 60
1-Ацил-2-тиогидантоины оптически активные 342, 343
синтез 342

Байкиаин, нахождение в природе 31
Белки, спиральная структура 275, 276
N-Бензиламинокислоты 412, 413
5-Бензилгидантоин-3-уксусная кислота, амид, получение 625
S-Бензилгомоцистеин
дисперсия оптического вращения 162, 163
метаболическое превращение D-изомера в ацетил-L-производное 185
определение оптической чистоты 781
оптическое разделение 64, 81, 88
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
Бензиловые эфиры аминокислот 425, 427, 423—437

Бензиловые эфиры карбобензоксиаминокислот 436, 448—450
S-Бензилпеницилламин, оптическое разделение 88
Бензилпенициллин, нахождение в природе 285
Бензилсульфониламинокислоты 422, 423
Бензилсульфонильная группа 422, 423
Бензилтиокарбониламинокислоты 417
N-Бензилтиокарбонильная группа 417
S-Бензилцистеин
ацетилирование L- и D-изомеров 185
дисперсия оптического вращения 162, 163
определение оптической чистоты 781
оптическое разделение 63, 64, 70, 88
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
Бензоиламинокислоты
нахождение в природе 280, 281
оптическое разделение на крахмале 97
Бензоиламинокоричная кислота, азлактон, *цис*- и *транс*-изомеры 834, 835
Бензоиламинокротоновая кислота, азлактон, *цис*- и *транс*-изомеры 834, 835
Бензоилгексаглицин
т. пл. 313
этиловый эфир, т. пл. 313
Бензоилгептаглицин, т. пл. 313
Бензоилглицин, см. также Гиппуровая кислота
температура плавления
азида 313
гидразида 313
кислоты 313
этилового эфира 313
Бензоилдиглицин
получение 313
температура плавления
азида 313
гидразида 313
кислоты 313
этилового эфира 313
ε-Бензоиллизин, оптическая инверсия 204
δ-Бензоилорнитин, оптическая инверсия 204
Бензоилпентаглицин
температура плавления
азида 313
гидразида 313
кислоты 313
Бензоилтетраглицин
температура плавления
азида 313
кислоты 313
этилового эфира 313
Бензоилтриглицин
температура плавления
азида 313
кислоты 313
этилового эфира 313
Бетоницин, нахождение в природе 35
Бёттингера синтез 353—356, 364
ε-Биотинил-L-лизин, см. Биоцитин
Биоцитин, нахождение в природе 282
α-Бромбутириламинокислоты, т. пл. 320
α-Бромизовалериламинокислоты, т. пл. 321
α-Бромизокапроиламинокислоты, т. пл. 319, 320
α-Бромизокапроилпептиды, т. пл. 319
α-Бромизокапроилпролин, аммонолиз 322
Бромкамфорсульфокислота как агент оптического разделения 66
α-Бромпропиониламинокислоты, т. пл. 318, 319
α-Бромпропионилпептиды, т. пл. 318, 319
α-Бром-β-фенилпропиониламинокислоты, т. пл. 320, 321
α-Бром-β-фенилпропионилпептиды, т. пл. 320, 321
S-*n*-Бромфенилцистеин, ацетилирование D-изомера *in vivo* 185
Бруцин как агент оптического разделения 66
Бумажные хроматограммы; см. также Хроматография на бумаге
открытие с их помощью
аргинина 785
гистидина 785
дийодтирозина 785
йодосодержащих соединений 786
метионина 785
δ-оксилизина 785
оксипролина 785
серина 785
тирозина 785
тироксина 785
треонина 785
трииодтиронина 785
триптофана 785
цистеина 785
цистина 785
реагенты для цветных реакций
изатин 784, 786
Несслера 786
нингидрин 784
нитропруссид натрия 784, 785
Паули 785, 786
Сакагучи 784
сульфат церия 786
четырехиодистая платина 786
Эрлиха 786
Бутанол-2, определение конфигурации 172
трет-Бутилоксикарбониламинокислоты 401
Бутирин
вкус L- и D-изомеров 192
дисперсия оптического вращения
молекулярное вращение 162, 163
нахождение
в природе 36
в белках 23
определение оптической чистоты 781
оптическое разделение 69, 70, 88
синтез 122
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
чувствительность к оксидазе L- и D-аминокислот 187

Вазопрессин, нахождение в природе 285

DL-Валилглицин, N-карбобензокси-, этиловый эфир 490, 502
Валин
N-ацилпроизводные 149
вкус L- и D-изомеров 192
выделение из казеина 8
дисперсия оптического вращения 161—163
D-изомер, нахождение в природе 24
медный комплекс 167
дисперсия оптического вращения 166—168
молекулярное вращение 167
молекулярное вращение 136
определение
конфигурации 115
оптической чистоты 781
оптическая инверсия 195, 205
оптическое разделение 180, 73, 75, 78, 82, 87, 91
удельное вращение при различных длинах волн 161—163
чувствительность к оксидазе L- и D-аминокислот 187
Валин, этиловый эфир, т. кип. 295
L-Валин
N-тозил 390, 391
N-трифторацетил- 419
Вальденовское обращение 193—196, 325, 326
демонстрация кинетическими методами 200—206
Винная кислота
абсолютная конфигурация 110, 111
как агент оптического разделения 66
оптическое разделение 64, 65, 177
Вкус L- и D-аминокислот 192
при определении конфигурации 191, 192

Габриэля синтез 58
α-Галогенациламинокислоты, эфиры, превращение в дикетопиперазины 306, 307
α-Галогензамещенные кислоты, применение в синтезе аминокислот 51, 52
α-Галогензамещенные кислоты, галоидангидриды
синтез 315—317
применение в синтезе пептидов 315—330
α-Галогензамещенные насыщенные кислоты, эфиры, применение в синтезе аминокислот 50
α-Галогенсукциниламинокислоты, аммонолиз 322, 323
Гексагидротирозин
синтез 117
удельное вращение 117
Гексагидрофенилаланин
N-ацильное производное 149
метаболическое превращение D-изомера в ацетил-L-производное 184
синтез 116
удельное вращение 117
Гексаглицин, метиловый эфир, синтез 302, 302
Гексагомосерин; см. также ε-Оксинорлейцин
Гептилин
вкус L- и D-изомеров 192
дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
определение оптической чистоты 781
оптическое разделение 89
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
Герцинин, нахождение в природе 36, 126
Гидантоины L-аминокислот, молекулярное вращение 144
Гидразиды
ациламинокислот 454, 455
ацилированных пептидов 458—460
тритиламинокислот 457
трифторацетиламинокислот 457
фталиламинокислот 457
ε-Гидроксиламино-L-норлейцин, нахождение в природе 37
Гипафорин 35
Гипертенсин I, нахождение в природе 283
Гипертенсин II, нахождение в природе 283
Гиппурилбензоат 468, 469
Гиппуриказа 82
Гиппурилглицин, получение 344
Гиппуровая кислота
активированные эфиры 529
нахождение в природе 82
L-Гистидилглицин, N^{α}-карбобензокси-, бензиловый эфир 549
Гистидин
бетаин, см. Герцинин
вкус L- и D-изомеров 192
выделение
из белковых гидролизатов 10
из стурина 10
дисперсия оптического вращения 160, 162, 163
молекулярное вращение 136
определение
конфигурации 117, 119, 125—128
оптической чистоты 780, 781
оптическое разделение 63, 69, 75, 78, 69, 96, 180, 182, 184
открытие на бумажных хроматограммах 785
превращение
в аспарагиновую кислоту 117, 119
в эрготионин 126, 127
удельное вращение при различных длинах волн 160, 162, 163
чувствительность к оксидазе L- и D-аминокислот 187
L-Гистидин
N^{im}-бензил- 552—554
N^{α},N^{im}-дикарбобензокси- 550, 551
N^{α}-карбобензокси- 550—552
N^{α}-карбобензокси-, гидразид, метиловый эфир 548, 549
Глицериновый альдегид
абсолютная конфигурация 110, 111
как стандарт отнесения конфигурации 105 106, 109, 110

корреляции конфигурации с серином 202, 203
определение конфигурации 109, 110
Глицил-L-аланил-L-фенилаланилглицин,
N-карбобензокси-, этиловый эфир 494
Глицил-L-аспарагин, N-фталил- 524
Глицилацетат, N-карбобензокси- 469
Глицилбензоат, N-фталил- 469
Глицил-DL-валин, тиофениловый эфир
Глицилглицин 302, 311, 317, 500; 706, 709, 710
N,N′-дикарбобензокси- 500
N-карбобензокси- 520
N′-карбобензокси-, бромгидрат 500
N-карбобензокси-, тиофениловый эфир 520, 521
N-карбобензокси-, этиловый эфир 301, 497
синтез 310, 311, 706, 709
N-тозил- 518
N-тритил- 530, 633, 706
N-тритил-, этиловый эфир 530, 633
N-трифторацетил- 474, 475
N-фталил- 467, 709
хлоргидрат, синтез 311
этиловый эфир, хлоргидрат 308, 310, 311, 383
Глицилдегидрофенилаланилглицин, синтез 350
Глицилдегидрофенилаланин, синтез 347, 350
Глицил-N-карбобензоксиглицилглицин, N-карбобензокси-, этиловый эфир
Глицил-L-лейцилглицин
n-нитротиофениловый эфир 534
n-нитрофениловый эфир 534
Глицил-DL-лейцин, тиофениловый эфир 532
Глицил-L-серин, получение 328—330
Глицилтирозин, N-карбобензокси- 481
Глицил-L-тирозин
амид (ацетат) 697
N-карбобензокси- 481, 632
N-карбобензокси-, амид 624
N-карбобензокси, этиловый эфир 502, 624, 632, 697
этиловый эфир, ацетат 697
Глицил-DL-фенилаланин
N-карбобензокси- 489
N-карбобензокси-, этиловый эфир 489, 490, 499
Глицил-L-фенилаланин
N-карбобензокси- 490
N-карбобензокси-, смешанный ангидрид с серной кислотой 494
Глицин
ангидрид
получение 304, 311
скорость образования из различных эфиров глицина 304, 305
бензиловый эфир 436, 437
n-толуолсульфонат 439, 440
хлоргидрат 432, 439, 440
N-*трет*-бутилоксикарбонил- 505, 506
выделение из желатины 8
гиппурил- 468, 469
N-карбобензокси- 396, 470, 471, 477, 479, 481, 500
анилид 470, 471, 476
дибензилфосфат 481
n-нитротиофениловый эфир 529
n-нитрофениловый эфир 524
2-тетрагидропираниловый эфир 530
тиофениловый эфир 524
N-карбоксиангидрид 371—374
N-*n*-нитрокарбобензокси- 398, 399
смешанный ангидрид с дибензилфосфорной кислотой 482
смешанный ангидрид с фосфорной кислотой 483
тиофениловый эфир 532
N-тритил- 408—411
цианметиловый эфир 530
этиловый эфир 409, 530
трифторацетил-, ангидрид
N-формил 421, 705
L-N-(3-формил-2,2-диметилтиазолидин-4-карбокси)-705
метиловый эфир 706
N-фталил- 467, 481, 486, 531
ангидрид 481
гидразид
дибензилфосфат 481
хлорангидрид 465, 481
1-этоксивиниловый эфир 531
γ-Глутамил-L-аланилглицин, нахождение в природе 283
α-аминобутирилглицин, нахождение в природе 283
валилглутаминовая кислота, нахождение в природе 281
S-метил-L-цистеин
нахождение в природе 280
сульфоксид, нахождение в природе 280
L-α-Глутамил-L-валин 696
N-карбобензокси- 576, 632, 696
N-карбобензокси-, этиловый эфир 576, 577, 632
L-α-Глутамилглицин
N-тозил- 582, 634
N-фталил-, диметиловый эфир 587
этиловый эфир 576
L-γ-Глутамилглицин, N-тозил-, этиловый эфир 581
Глутамин
вкус D- и L-изомеров 192
выделение из глиадина 8
медный комплекс, дисперсия оптического вращения 168
молекулярное вращение 136
определение конфигурации 124, 150
превращение в γ-аминобутирин 124
L-Глутамин 709, 716, 717
N-карбобензокси- 522, 715
N-карбобензокси-, бензиловый эфир 716
N-тозил- 581, 716
N-фталил 577, 578, 709, 716
Глутаминовая кислота
вкус L- и D-изомеров 192
выделение из глютенфибрина 8

гидантоиновое производное 144
дисперсия оптического вращения 158, 160, 162, 163
D-изомер, нахождение в природе
N-карбобензокси-
γ-азид 462
ангидрид 462, 577
медный комплекс, дисперсия оптического вращения 168
молекулярное вращение 136
определение
конфигурации 119—121, 124
оптической чистоты 780, 781
оптическое разделение 64, 65, 69, 71 75, 76, 78, 81, 89, 177, 180, 181, 182
превращение
в γ-аминобутирин 124
в пролин 119—121
удельное вращение при различных длинах волн 160, 162, 163
влияние температуры 130
чувствительность к действию различных плесеней 178
чувствительность к оксидазе D- и L-аминокислот 187
DL-Глутаминовая кислота
N-фталил, ангидрид 577
L-Глутаминовая кислота 64
α-бензиловый эфир 440
γ-бензиловый эфир 440, 441
дибензиловый эфир, хлоргидрат 432
N-карбобензокси-
ангидрид 521, 576
γ-гидразид 588, 589
γ-метиловый эфир, хлоргидрат 427
α-тиофениловый эфир 521
γ-тиофениловый эфир 521, 522
N-трифторацетил- 582, 583, 586
N-тозил 678, 580, 586
γ-фосфат 485
N-фталил 407, 408, 578
N-фталил-, ангидрид 521, 577, 578
N-фталил, γ-метиловый эфир 587
N-фталил, γ-тиофениловый эфир 521
γ-этиловый эфир 427, 428, 589, 657
Глутаминовые кислоты, N-ацетил-, ангидриды
Глутатион, нахождение в природе 280
Глюкоза
как стандарт отнесения конфигурации 105, 106
корреляция конфигурации с глюкозамином 206—210
Глюкозамин
определение конфигурации 208—210
превращение в аланин 209, 210
синтез 206—208
Гомоглутамин, см. также α-аминоадипиновая кислота
вкус L- и D- изомеров 192
молекулярное вращение 136
Гомограмицидин С, синтез 533, 534
Гомопролин, см. Пипеколиновая кислота
Гомосерин
дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
нахождение в природе 32
определение оптической чистоты 781
оптическое разделение 71, 89
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
Гомоцистеин, нахождение в природе
Гомоцистеин, ангидрид, окисление 308
Гомоцистин
дисперсия оптического вращения 162, 163
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
Гофмана перегруппировка, применение в синтезе аминокислот 54
Грамицидин С, нахождение в природе 285
Гуваци, нахождение в природе 31

Дарапского метод синтеза аминокислот 53, 54
Дегидропептиды 348—364
действие дегидропептидазы 332
действие минеральных кислот 331, 332
коэффициенты экстинкции 363
ненасыщенный характер 362—364
продукты присоединения 362—364
синтез 331, 344—358, 364
температуры плавления 348, 349
удельное вращение 348, 349
УФ-спектры поглощения 360—362
Декарбоксилазы аминокислот
применение
при определении оптической конфигурации
при определении оптической чистоты
при оптическом разделении аминокислот
специфичность
Децилин
Определение
Конфигурации 190
оптическое разделение 89
оптической чистоты 780, 781
6-Диазо-5-оксо-L-норлейцин, нахождение в природе 37
α,α′-Диаминоадипиновая кислота, нахождение в природе 23
α,γ′-Диаминоглутаровая кислота, нахождение в природе 23
α,γ-Диаминомаслиная кислота; см. Аминобутирин
α,ε-Диаминопимелиновая кислота
молекулярное вращение 137
нахождение в природе 28
определение конфигурации 190
оптическое разделение 89, 97
разделение диастереомеров, 94
α,β-Диаминопропионовая кислота; см. β-Аминоаланин
Диаминотриоксидодекановая кислота 23
Диарилсульфиты 552, 523
α,α-Ди-(ацетамино)-пропиоилглицин, получение 358
α,α-Ди-(ацетамино)-пропионовая кислота, азлактон 358
α,α-Ди-(ацетамино)-пропионовая кислота, синтез 358

α,α-Ди-(ациламино)-кислоты (алифатические)
продукты аминолиза 354
разложение водным экстрактом почек крысы 353
синтез 350—358
строение и устойчивость 352
температуры плавления 354
чувствительность к энзиматическому расщеплению 355
N,N-Дибензиламинокислоты 412
Дибензилхлорфосфат, получение 484
Дибензил-β-амино-L-алания
метиловый эфир 151
этиловый эфир 151
Дибензоил-γ-амино-L-бутирин
метиловый эфир 151
этиловый эфир 151
α,ε-Дибензоиллизин
метиловый эфир 151
этиловый эфир 151
α,δ-Дибензоилорнитин; см. Орнитуровая кислота
α,δ-Дибензоилорнитин
метиловый эфир 151
этиловый эфир 151
3,5-Дибромтирозин
выделение из скелета коралла 9
оптическое разделение 70
α,α-Ди-(глициламино)-пропионовая кислота
синтез 355
чувствительность к энзиматическому расщеплению 355
Диглицилглицин 321
этиловый эфир, бромгидрат 479
3,5-Дийодтирозин, выделение из скелета коралла 9
определение конфигурации 117
открытие на бумажных хроматограммах 785
синтез 117, 118
удельное вращение 117
3,5-Дийодтиронин, оптическое разделение 73
2,5-Дикетопиперазин; см. Глицин, ангидрид
2,5-Дикетопиперазины
ассиметричные или смешанные 303
применение
в синтезе аминокислот 56
в синтезе пептидов 301—312
симметричные (гомогенные) 303
синтез 292—295, 303—310, 532
стереохимия 302, 303
рацемизация
под действием щелочи 309, 310
самопроизвольная 309
частичный гидролиз 302, 303, 308, 310
Дина — Старка, аппарат для азеотропной перегонки 439
β,γ-Диоксиглутаминовая кислота, нахождение в природе 26
α,α′-Диоксиглутаровая кислота.
корреляция конфигурации 236
молекулярное вращение 235
синтез 235
Диоксидиаминопробковая кислота 23
3,4-Диокси-2-метилфенилаланин, оптическое разделение 96
Диоксипирролаланин 23
2,3-Диоксифенилаланин, оптическое разделение 96
2,4-Диоксифенилаланин, оптическое разделение 96
2,5-Диоксифенилаланин
молекулярное вращение 136
оптическое разделение 70, 96
3,4-Диоксифенилаланин
нахождение в природе 28, 123
определение конфигурации 123
синтез 123
удельное вращение 123
влияние концентрации 131
3,5-Диоксифенилаланин, оптическое разделение 96
3,4-Диокси-β-фенилсерин
влияние β-ассиметрического центра на чувствительность к ферментам 225
разделение диастереомеров 97
ферментативное декарбоксилирование 97
Дипептиды, превращение в дикетопиперазины 307, 308
Дипептиды, эфиры, превращение в дикетопиперазины 292, 294, 306, 307
Ди-*n*-нитрофенилсульфит, получение 524
Дисперсия оптического вращения 152—166
аминокислот 158—166
кривые для L-изолейцина 158
медных солей аминокислот 166—170
определение 152
представление в виде
двучленного уравнения Друде 154, 155
одночленного уравнения Друде 154—156
уравнения Био 154
типы 154, 155, 169, 165
и эффект Коттона 154
Дифенацетил-L-орнитин, нахождение в природе 281
Дифенилкетен-N-*n*-толиламин 515
Дифенилкетен-N-*n*-толиламин, аддукты с ациламинокислотами 515
Дифенилуксусная кислота, *n*-толуидид
α,α-Ди-(хлорацетамино)-пропионовая кислота, получение 353
N,N′-Дициклогексилкарбодиимид, синтез 509
N,N′-Дициклогексилмочевина 508
N,N′-Дициклогексилтиомочевина, синтез 509
Диэтилхлорфосфит, получение 487, 488
Додецилин
определение
конфигурации 190
оптической чистоты 780
оптическое разделение 89
Дофа, см. 3,4-Диоксифенилаланин
Дьенколевая кислота, нахождение в природе 33

Изовалин
влияние ионизации на оптическое вращение 138

дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
определение конфигурации 137—139
оптическое разделение 71, 75, 89, 92, 180
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
L-Изоглутамин, N-тозил-, получение 579, 580
Изолейцин, *Алло*-изолейцин 220—227
абсолютная конфигурация 227
вкус L- и D-изомеров 192
влияние β-ассиметрического центра на чувствительность к ферментам 220, 221
выделение из фибрина 8
дисперсия оптического вращения 158, 162, 163
корреляция конфигурации
с антеизокислотами 221
с α-метилзамещенными кислотами 221
с β-метилзамещенными кислотами 221
с О-метилтреонином 225—227
медный комплекс 167
дисперсия оптического вращения 167, 168
молекулярное вращение 167, 168
парциальное молекулярное вращение 170
молекулярное вращение 137
нахождение в природе
D-аллоизомера 24
D-изомера 24
определение
конфигурации 180, 220—227
оптической чистоты 778, 782
примеси лейцина 787
стерического состава 778
оптическая инверсия 205
оптическое разделение 71, 75, 78, 81, 89, 180
парциальное молекулярное вращение 140, 142
парциальное удельное вращение при различных длинах волн 165, 166
разделение дистереомеров 94, 95
рацемизация 180, 340
рентгеноструктурный анализ
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
чувствительность к оксидазе L- и D-аминокислот 187, 224—227
этиловый эфир, т. кип. 295
Изолимонная кислота
константы диссоциации 244
молекулярное вращение 243, 244
парциальное молекулярное вращение 243
формулы Дрю — Хаворта 246
Ионообменная хроматография для определения чистоты аминокислот 777, 778

Камфорная кислота как агент оптического разделения 66
Камфорсульфокислота как агент оптического разделения 66
Канаванин, нахождение в природе 27
Каприлин
определение
конфигурации 190
оптической чистоты 781
оптическое разделение 70, 88
Карбамилметиламмониевая соль карбамилметилдитиокарбаминовой кислоты, получение 381
О-Карбамилсерин, D-изомер, нахождение в природе 37
N-Карбоаллилоксиаминокислоты 397
Карбоаллилоксигруппа 398
Карбобензоксиаминокислоты, амиды 626—630
N-Карбобензоксиаминокислоты 391
Карбобензокси-L-глутамин, получение 81, 522
Карбобензокси-L-гомоглутамин, получение ассиметрическим гидролизом 81
Карбобензоксигруппа 391—402
Карбобензоксихлорид, получение 391, 396
Карбодиимидный метод 508—515
N-Карбо-*п*-бромбензилоксигруппа 398
Карбо-*трет*-бутилоксигруппа 399, 401
N-Карбокси-α-аминокислоты, выделение в виде динатриевой соли 373
2-[S-(β-Карбокси-β-аминоэтил)-триптофан, нахождение в природе 29
N-Карбоксиангидриды аминокислот, применение для получения бензиловых эфиров
N-Карбоксиангидриды α-аминокислот
поведение в водной среде 364, 365, 372—374
полимеризация 373, 371, 377—379
в воде 373, 374
в жидком состоянии 378
в инертном растворителе 378, 379
в твердом состоянии 377
получение 365—372
с использованием азидной перегруппировки 367
с использование карбалкоксиаминокислот 365—370
с использованием фосгена 367, 371, 372
применение в синтезе пептидов 364—379
реакции полимеризации 364, 365, 373, 374, 377—379
ступенчатый синтез 365, 374—377
температура плавления 368—370, 372
устойчивость 364, 365
Карбоксипептидаза панкреатическая
влияние на гидролитическое действие ацильных заместителей 85—86
при определении оптической конфигурации 189, 190
при оптическом разделении аминокислот 84—86
специфичность 189, 190
чувствительность различных N-ациламинокислот к гидролитическому действию 90, 91
N-Карбометоксиаминокислоты, т. пл. 368—370
Карбо-*п*-метоксибензилоксигруппа 399
Карбо-α-нафтилметоксигруппа 398

Карбонил-*бис*-аминокислоты, образование из эфиров карбэтоксидипептидов 313—315
N-Карбо-*п*-толилоксигруппа 398
Карбоциклогексилоксигруппа 399, 402
N-Карбоциклопентилоксигруппа 399, 402
Карбэтокси-DL-аланилглицин
температура плавления
амида 314
свободной кислоты 314
этилового эфира 314
Карбэтокси-DL-аланин
температура плавления
амида 314
свободной кислоты 314
этилового эфира 314
N-Карбэтоксиаминокислоты, т. пл. 368—370
Карбэтоксиглицил-DL-аланин
температура плавления
амида 314
свободной кислоты 314
этилового эфира 314
Карбэтоксиглицилглицин
температура плавления
амида 314
свободной кислоты 314
этилового эфира 314
Карбэтоксиглицилглицин, этиловый эфир, превращение в карбонил-*бис*-глицин 314
Карбэтоксиглицин
температура плавления
амида 314
свободной кислоты 314
этилового эфира 314
Карбэтоксидипептиды, эфиры, перегруппировка в карбонил-*бис*-аминокислоты 314, 315
Карбэтокситтетраглицин
температура плавления
амида 314
свободной кислоты 314
этилового эфира 314
Карбэтокситтриглицин
температура плавления
амида 314
свободной кислоты 314
этилового эфира 314
Карнозин
нахождение в природе 127, 282
определение конфигурации 127
синтез 127
удельное вращение 127
установление строения 127
Квазирацемические соединения 209, 211
кривые температур плавления 211
определение 211
при корреляции конфигурации 209—213
α-Кетокислоты, применение в синтезе аминокислот 52
Кинетические методы в определении конфигурации 200—206
Кинуренин
нахождение в природе 29
оптическое разделение 96
Конфигурационные отношения, см. Конфигурация, Корреляция конфигурации
Конфигурация; см также Корреляция конфигурации
абсолютная 110, 111, 170, 172
винной кислоты 110, 111, 173
глицеринового альдегида 110, 111
1,2-дихлорпропана 110, 173
изолейцина 227
молочной кислоты 173
серина 173
α-хлорпропионовой кислоты 173
2,3-эпоксибутана 111, 173
1,2-эпоксипропана 111
влияние структурных изменений 196, 197, 199, 224—227
α-атома водорода 197
в аминогруппировке 197, 199
в карбоксильной группировке 196, 197
изображение на плоскости 107—109
по правилу
жесткого тела 108
квазитрехмерного пространства 109
перестановки 108, 109, 111
последовательности 111
определение биологическими методами 175—193, 213—214
взаимопревращениями с участием 2-аминосахаров 206—209
кинетическими методами 200—206
методами дисперсии оптического вращения 158—170
оптическими методами 129—175, 199, 200
по вкусу 192, 193
по изменениям вращения, вызванным добавлением воды к безводным растворам 257, 258
по изменениям вращения, вызванным замещением 134—143, 203—205
по изменениям вращения, вызванным ионизацией 143—152
по направлению сдвига молекулярного вращения
аминопроизводных 146, 147
гидантоиновых производных 143, 144
гомологического ряда 150—153
N-метилированных производных 152
пептидов глицина с концевыми N-или С-атомами 144—146
структурнородственных соединений 152, 153
по обмену веществ
в микроорганизмах 176—183
у млекопитающих 183—185
по образованию квазирацемического соединения 209—213
по оптическому смещению производных 147—149
по оптической суперпозиции 132—134
по правилу Клафа, 203
по правилу Клафа — Лутца— Иргенсонса 134—143
по правилу сдвига 147, 148, 199, 200
по стереоспецифичному усвоению в кишечнике 193
по токсичности 193

рентгеноструктурным анализом 219, 227, 235
ферментативным гидролизом 189, 190 213, 214
ферментативным окислением 185—189, 223—227
ферментативным синтезом 190—191
химическими взаимопревращениями 112—129, 206—209
относительная 107—109
стандарты отнесений 105, 106, 110
Корреляция конфигурации 105—261; см. также Конфигурация аминокислот
с α-алкилзамещенными кислотами 211—213
с α-бромзамещенными кислотами 202—206
с двумя асимметрическими центрами 216—261
с α-меркаптокислотами 211—213
с α-оксикислотами 196—199, 203, 211, 213
с соединениями других классов 193—214
с углеводами 206—209
с α-хлорзамещенными кислотами 202, 214
серина и глицеринового альдегида 202
Кротонилглицин, восстановление в норлейцин 124
Курциуса перегруппировка, применение в синтезе аминокислот 52—54

Лантионин
выделение из белковых гидролизатов 23
нахождение в природе 33
Лейценол, см. Мимозин
L-Лейцилглицил-L-лейцилглицин
DL-Лейцилглицин, N-ацетил-, этиловый эфир 498
Лейцилпролин, ангидрид; см. Ангидрид L-лейцил-L-пролина
L-Лейцил-L-тирозин, N-карбобензокси-, этиловый эфир 488, 489
L-Лейцилтриглицил-L-лейцилтриглицил-L-лейцилоктаглицилглицин, синтез 317
Лейцин
N-ацильные производные 149
вкус L- и D-изомеров 192
выделение из мышечных волокон и шерсти 8
гидантоиновое производное 144
дисперсия оптического вращения 161—163
загрязнение изолейцином 777
D-изомер, нахождение в природе 8
медный комплекс 167
дисперсия оптического вращения 167, 168
молекулярное вращение 167
молекулярное вращение 136
определение
конфигурации 152, 153
оптической чистоты 781
оптическая инверсия 195, 204
оптическое разделение 69, 71, 75, 76, 78, 81, 87, 89, 177, 178, 183, 191
удельное вращение
влияние температуры 130
при различных длинах волн 161—163
чувствительность к оксидазе L- и D-аминокислот 187
к стереоспецифичному действию плесеней 178
этиловый эфир, т. кип. 295
L-Лейцин
карбобензокси-, этиловый эфир 472
N-тритил, диэтиламмониевая соль 411
трет-Лейцин
дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
определение конфигурации 190
оптическая инверсия 205, 206
оптическое разделение 89
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
Лизин
выделение из казеина 8
дисперсия оптического вращения 161—164
метиловый эфир, поликонденсация 294—295
молекулярное вращение 136
определение
конфигурации 150
оптической чистоты 781
оптическое разделение 64, 69, 76, 77, 81, 87, 89, 182
удельное вращение
влияние концентрации 131
при различных длинах волн 161—163
хлоргидрат 788
чувствительность к оксидазе L- и D-аминокислот 187
β-Лизин, нахождение в природе 38
L-Лизин
N^{α}, N^{ε}-дикарбобензокси-, азид 544
ε-карбобензокси-, N-карбокспангидрид 544
ε-карбобензокси-, метиловый эфир, хлоргидрат 544
ε-тозил-545
ε-тозил-, α-карбобензокси- 544—546

Малоновая кислота, применение в синтезе аминокислот 53, 54
Манделиламинокислоты, разделение диастереомеров 74
Ментоксиацетиламинокислоты, разделение диастереомеров 74
2-Меркаптотиазол-5-он, применение в синтезе аминокислот 57
Меркаптуровые кислоты, нахождение в природе 281
α-Метиламинокислоты, оптическое разделение 87, 92, 93
β-Метиласпарагиновая кислота, оптическое разделение 90
2-Метил-4-бензаль-5-оксазолон, получение 332, 333
N-Метилвалин, нахождение в природе 34

1-Метилгистидин, нахождение в природе 27
2-Метилгистидин, нахождение в природе 27
3-Метилгистидин, нахождение в природе 27
N-Метилглицин; см. Саркозин
γ-Метилглутаминовая кислота, нахождение в природе 26
γ-Метиленглутамин, нахождение в природе 26
γ-Метиленглутаминовая кислота, нахождение в природе 26
β-Метиллантионин, нахождение в природе 33
α-Метилмасляная кислота, определение конфигурации 223
N-Метил-β-метил-L-лейцин, нахождение в природе 34
Метиловые эфиры как защитная группа для карбоксильной функции 425—432
селективное удаление
кислым гидролизом 633, 634
щелочным гидролизом 625, 632, 633
γ-Метиловый эфир L-глутаминовой кислоты, хлоргидрат, получение 427
γ-Метил-γ-оксиглутаминовая кислота, нахождение в природе 26
4-Метилпролин, нахождение в природе 29
O-Метилсерин, оптическое разделение 73
α-Метилсерин
корреляция конфигурации 92, 93
молекулярное вращение 137
нахождение в природе 32
определение конфигурации 190
оптическое разделение 90, 92, 93
Метилсульфониевая соль метионина, нахождение в природе 33
Метилтиокарбониламинокислоты
как промежуточные соединения в синтезе пептидов 416
синтез 417
температура плавления 420
Метилтиокарбонилглицин, этиловый эфир, температура плавления 450
N-Метилтиокарбонильная группа как защитная группа для аминной функции 417, 420
селективное расщепление окислением 711
O-Метилтреонин
влияние β-асимметрического центра на чувствительность к энзимам 225, 226
конфигурационные соотношения с изолейцином, 225—227
медный комплекс
дисперсия оптического вращения 168
молекулярное вращение 168
парциальное молекулярное вращение 170
молекулярное вращение 137
оптическая инверсия 206
оптическое разделение 73, 91
разделение диастереомеров 95
парциальное молекулярное вращение 140
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 225, 226
N-Метил-L-фенилглицин, нахождение в природе 34
O-Метил-β-фенилсерин, разделение диастереомеров 95
S-Метилцистеин
нахождение в природе 33
оптическое разделение 90
сульфоксид, нахождение в природе 33
4-Метилэрготионин, синтез 126
Метионин
вкус L- и D-изомеров 192
выделение из казеина 9
дисперсия оптического вращения 161—163
молекулярное вращение 132
влияние растворителя 132
определение конфигурации 122
оптическая инверсия 204, 205
оптическое разделение 69, 71, 72, 76, 78, 81, 82, 87, 90
превращение в бутирин 122
рацемизация 341
сульфоксид
молекулярное вращение 137
нахождение в природе 33
парциальное молекулярное вращение 140
разделение диастереомеров 95
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187
удельное вращение при различных длинах волн 161—163
Метод наименьших квадратов 155—158
приложение к одночленному уравнению Друде 158—159
n-Метоксибензилоксикарбонилпептиды, температуры плавления 651
n-(*n*-Метоксифенилазо)-бензилоксикарбониламинокислоты
как промежуточные соединения в синтезе пептидов 399
синтез 399
температуры плавления 399
N-*n*-(*n*-Метоксифенилазо)-бензилоксикарбонильная группа как защитная группа для аминной функции 399
n-Метоксифенилаланин, гидантоиновое производное 144
Мимозин, нахождение в природе 29
Миналин, нахождение в природе 32
Молекулярное вращение, см. также Оптическое вращение
определение 129
эмпирическая связь со структурой α-аминокислот с прямой углеродной цепью 173—175
Молочная кислота
корреляция конфигурации с аланином 198, 199, 200, 211, 212
молекулярное вращение различных производных 198
определение конфигурации 172, 173
Моноглицил-L-цистин 572, 574, 575
Монодинитрофенилцистин, дисульфидный обмен 574
Монокарбобензоксиглицил-L-цистин, получение 574, 575
Монокарбобензокси-L-цистин
дисульфидный обмен 573, 574
синтез 573

тозилат *бис*-бензилового эфира, синтез 572
хлоргидрат *бис*-метилового эфира, синтез 572
Морфин, применение в качестве разделяющего на антиподы агента 66

Натрий в жидком аммиаке как реагент для отщепления защитных групп 699—703
Нитроаргинин
оптическое разделение 88
синтез 553
S-*n*-Нитробензил-L-цистеин, этиловый эфир хлоргидрат, получение 563, 564
S-*n*-Нитробензильная группа
как защитная группа для сульфгидрильной функции 563, 564
селективное снятие каталитическим гидрогенолизом 563, 692, 693, 697
Нитрогруппа аргинина, селективное снятие каталитическим гидрогенолизом 693, 697, 698
n-Нитрокарбобензоксиаминокислоты
как промежуточные соединения в синтезе пептидов 399
синтез 398, 399
температуры плавления 400, 401
амидов 630
цианметиловых эфиров 526
эфиров (бензиловых, этиловых) 449, 450
удельные вращения 400, 401
амидов 630
эфиров (бензиловых, этиловых) 449,450
n-Нитрокарбобензоксиаспарагиновая кислота
ангидрид, применение в синтезе пептидов 582, 583
температура плавления 584
n-Нитрокарбобензоксиглицин, получение 398, 399
n-Нитрокарбобензоксиглутаминовая кислота, ангидрид
как промежуточное вещество в синтезе пептидов 582, 583
синтез 578
температура плавления 584
удельное вращение 584
N-*n*-Нитрокарбобензоксигруппа
как защитная группа для аминной функции 398—401
селективное снятие каталитическим гидрогенолизом 692—695, 699
n-Нитрокарбобензоксипептиды
температуры плавления 649, 650
бензиловых эфиров 613
гидразидов 459, 460
метиловых эфиров 613
этиловых эфиров 613
удельные вращения 649, 650
амидов 630
бензиловых эфиров 613
гидразидов 459, 460
метиловых эфиров 613
этиловых эфиров 613
n-Нитрокарбобензоксихлорид, получение 398
3-Нитротирозин
синтез 123
удельное вращение 123
n-Нитрофенил-2-аминопропандиол-1,3, применение в качестве разделяющего на антиподы агента 67
β-(4-Нитрофенил)-серин, разделение диастереомеров 98
o-Нитрофеноксиацетиламинокислоты
как промежуточные соединения в синтезе пептидов 420
температуры плавления
гидразидов 455
этиловых эфиров 450
o-Нитрофеноксиацетилпептиды
температуры плавления 621
метиловых эфиров 621
этиловых эфиров 621
удельные вращения 621
N-*o*-Нитрофеноксиацетильная группа
как защитная группа для аминной функции 420
селективное снятие внутримолекулярным аминолизом 711, 712
Номенклатура аминокислот, см. Аминокислоты, номенклатура
Нонадекапептид, синтез 322
Нонилин
определение конфигурации 190
оптическое разделение 90
Норвалин
вкус L- и D-изомеров 192
дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
нахождение в природе 23
определение
конфигурации 125
оптической чистоты 781
оптическое разделение 72, 90
синтез 125
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187
Норлейцин
вкус L- и D-изомеров 192
дисперсия оптического вращения 162, 163
исторические вопросы 21
молекулярное вращение 136
определение
конфигурации 125
оптической чистоты 781
оптическое разделение 72, 90
синтез 125
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187
Норофтальмовая кислота, нахождение в природе 283
Нуклеофильное замещение 200—202

Окисление как метод удаления защитных групп 711

2,5-Оксазолиндиндионы, см. N-Карбокси-α-аминокислоты, ангидриды
Оксазолоны, см. Азлактоны
Оксамицин, нахождение в природе 285
α-Оксиаланин, нахождение в природе 32
1-Окси-2-аминобутан, оптическое разделение 69
ε-Оксиамино-L-норлейцин, нахождение в природе 37
β-Оксиаспарагиновая кислота 248
дезаминирование до винной кислоты 248
нахождение в природе 23
номенклатура 248, 249
определение конфигурации 248, 249
удельное вращение 248
γ-Оксибутирин, см. Гомосерин
α-Оксивалин, нахождение в природе 32
γ-Оксивалин, применение в синтезе аминокислот 56
β-Оксиглутаминовая кислота
исторические вопросы и проблема нахождения в природе 22
номенклатура 247
определение конфигурации 245, 247
оптическое разделение 245, 246
разделение диастереомеров 94
удельное вращение 246
γ-Оксиглутаминовая кислота 235—237
дезаминирование до диоксиглутаровой кислоты 235
корреляция конфигурации
с α,α′-диоксиглутаровой кислотой 235, 236
с γ-оксипролином 237
молекулярное вращение 137, 235
нахождение в природе 26, 235
номенклатура 237
определение конфигурации 190, 235—237
оптическое разделение
разделение диастереомеров 951
парциальное молекулярное вращение 89, 235
6-Окси-2,3-дигидроиндолил-3-аланин, нахождение в природе 23
3-Оксикинуренин, нахождение в природе 29
α-Оксикислоты
определение конфигурации 203, 204
оптическое разделение 178
удельные вращения 204
δ-Оксилейцинин, нахождение в природе 32
δ-Оксилизин — *Алло*-δ-оксилизин
выделение из желатина рыб 4
молекулярное вращение 137
определение конфигурации 190
оптическое разделение 89
парциальное молекулярное вращение 140
разделение диастереомеров 94
Оксиминалин, нахождение в природе 31
α-Оксиминокислоты, применение в синтезе аминокислот
4-Оксиметилпролин, см. 4-Окси-4-метилпролин
4-Окси-4-метилпролин, нахождение в природе 30
γ-Окси-N-метилпролин, нахождение в природе 35
δ-Оксинорвалин, см. также Пентагомосерин
дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
определение
конфигурации 190
оптической чистоты 781
оптическое разделение 89
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
β-Оксинорлейцин 247, 248
молекулярное вращение 136
номенклатура 247
определение конфигурации, 191, 247, 248
оптическое разделение 247
парциальное молекулярное вращение 140
удельное вращение 248
ε-Оксинорлейцин, см. также Гексагомосерин
дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
определение конфигурации 190
оптическое разделение 89
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
4-Оксипипеколиновая кислота, нахождение в природе 31
5-Оксипипеколиновая кислота
нахождение в природе 238
определение конфигурации 238
оптическая инверсия 238, 239
парциальное молекулярное вращение 140
разделение диастереомеров 95, 96
формулы Дрю — Хаворта 238, 239
γ-Оксипролин — *Алло*-γ-оксипролин 228—235
бетаин 230, 231; см. также Бетонацин
выделение из желатина 10
гидантоиновые производные 143, 144
дисперсия оптического вращения 162, 163
защита гидроксильной группы 539
корреляция конфигурации 228—235
с бетонацином 230, 231
с γ-окси-L-глутаминовой кислотой 237
с турицином 230, 231
медные комплексы
дисперсия оптического вращения 168, 169
молекулярное вращение 168
парциальное молекулярное вращение 170
межатомные расстояния 234, 235
молекулярное вращение 137
нахождение в природе
D-*алло*-изомера 24, 30
L-*алло*-изомера 30, 229
определение
конфигурации 119, 120, 228—235
оптической чистоты 781
оптическое разделение 71, 78
превращение
в аспарагиновую кислоту 119
в пролин 119

разделение диастеромеров 94, 96, 97, 229, 230
рацемизация 84, 230, 341
углы между связями 234, 235
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
влияние концентрации 131
форма молекулы 234, 235
формула Дрю — Хеуорса 229, 230
парциальное молекулярное вращение 140
парциальное удельное вращение при различных длинах волн 165
Окситоцин
нахождение в природе 285
синтез 702
5-Окситриптофан, нахождение в природе 28
β-(3-Оксифенил)-серин
разделение диастереомеров 97, 98
энзиматическое декарбоксилирование 97
β-(4-Оксифенил)-серин
разделение диастереомеров 97, 98
энзиматическое декарбоксилирование 97
α-Окси-α-формаминопропионовая кислота, синтез 351
Октадекапептид, синтез Фишера 322
Октопин
нахождение в природе 37
номенклатура 240
определение конфигурации 240
разделение диастереомеров 95
установление строения 238, 240
Оптическая активность
теория связанных осцилляторов 172
концепция Гюи и Брауна 170, 171, 174
одноэлектронная теория 172
теория поляризуемости 172, 173
Оптическая суперпозиция 132—134
концепция Вант — Гоффа 132, 133
приложение к аминокислотам 139
приложение к изомерным сахарам 138, 139
применение для установления стереохимических соотношений 133
Оптическая чистота
аминокислот, определение с помощью аминооксидазных и декарбоксилирующих ферментов 779—783, 787
пептидов 443—446, 712—715
влияние чистоты исходных веществ 443
влияние экспериментальных условий в процессе синтеза 444, 445
определение поляриметрическое 444—446
определение энзиматическими методами 445, 713—715
Оптически активные кислоты, применение в качестве разделяющих на антиподы агентов 66
Оптически активные основания, применение в качестве разделяющих на антиподы агентов 66
Оптическое вращение
влияние
длины волны 129, 130
концентрации 131
оптических примесей 132
растворителя 131, 132
температуры 130
и корреляция конфигураций 129—175
Оптическое смещение 147—149
Орнитин
из аргинина с помощью аргиназы 81
бетаин, нахождение в природе 35, 281
дисперсия оптического вращения 162—164
защита ω-аминогруппы 542, 543
молекулярное вращение 136
нахождение в природе 11, 27
определение
конфигурации 150
оптической чистоты 780, 781
оптическое разделение 90
превращение в пролин 122
синтез 23, 119, 122
соли с соляной кислотой 151
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
влияние концентрации 131
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187
Орнитуровая кислота, нахождение в природе 281
Офидин, нахождение в природе 282
Офтальмовая кислота, нахождение в природе 773

Палладиевая чернь как катализатор, приготовление 694
Палладия окись как катализатор, приготовление 694, 695
Пантонин, нахождение в природе 32
Папаин
применение для определения конфигурации 191
специфичность 191
Парциальные сдвиги вращения
диасимметрических аминокислот при различных длинах волн 165, 166
от воды к уксусной кислоте 142
от воды к минеральной кислоте 132—141
Парциальные молекулярные вращения диасимметрических аминокислот 139—143
в воде 139—143
в водных минеральных кислотах 139—141
в уксусной кислоте 142
вычисление 139—143, 169, 170
медных комплексов 168—170
β-фенилсерина 139—142
Парциальные удельные вращения 165
Паттерсона — Броде правило 158, 164, 166
модификация 165, 166
Пеницилламин
нахождение в природе 34
оптическое разделение 72
Пентаглицилглицин, синтез 296
Пептидазы
использование для синтеза пептидных связей 78—80
специфичность 79—82

Пептидная связь
доказательство наличия в белках 274, 275
синтез in vivo и in vitro 78—80, 190, 191, 480, 481
Пептиды; см. также Пептидная связь; Синтез пептидов
аланина, чувствительность к гидролизу ацилазой I 213, 214
β-аланина 663, 668, 669, 670
амиды, синтез 635, 657
аргинина, синтез 553—561
аспарагиновой кислоты, синтез 320, 323, 375—578, 582—588
бутирина в качестве N-концевого остатка 320
гистидина, синтез 547—553
глицина
использование при корреляции конфигураций аминокислот 144—147
молекулярное вращение 145, 146
синтез 328—330
глутаминовой кислоты, синтез 575—589
дегидроаланина, УФ-спектры поглощения 361, 362
дегидрофенилаланина, УФ-спектры поглощения 362
классификация 278, 279
лейцина 328
лизина, синтез, 542—546
макромолекулярные 286—288
свойства 287, 288
нахождение в природе 280—286
номенклатура и строение 274—279
γ-оксиглутаминовой кислоты, синтез 542
оксилизина, синтез 542
оксипролина, синтез 536, 537, 542
определение 274
оптическая инверсия 325, 326
оптическая чистота 443—446, 712—715
влияние чистоты исходных веществ 443, 444
влияние экспериментальных условий в процессе синтеза 444, 445,
определение
поляриметрическое 445, 446
энзиматическими методами 444, 445, 713—715
орнитина, синтез 542—546
пролина
внутримолекулярная циклизация 300
синтез 322, 323
разделение диастереомеров 324—326, 345
серина, синтез 536, 539—542
сокращенная номенклатура 277
стереохимические вопросы 276—278, 324—326
температуры плавления
амидов 663—666
бензиловых, метиловых и этиловых эфиров 658—662
нитрофениловых эфиров, бромгидратов 528
тиогликолевых эфиров, бромгидратов 528
тиофениловых эфиров, хлоргидратов 528
цианметиловых эфиров, хлоргидратов 528
тирозина, синтез 536—541
треонина, синтез 536
удельные вращения 667—691
N-аланил- 318, 319, 667—669
N-β-аланил-668—670
амидов 664—667
N-α-амино-n-бутирил- 671
N-аргинил-671
N-аспарагинил-671, 672
N-аспартил-671, 672
бензиловых, метиловых и этиловых эфиров 658—664
N-(S-бензилцистеинил)- 673, 674
N-валил- 321, 689—691
N-гистидил- 682
N-глицил- 318, 329, 677—682
N-глутамил- 674—677
N-глутаминил- 675—677
N-изолейцил- 683
N-лейцил- 318, 320, 683—685
N-лизил- 685, 686
N-метионил- 686, 687
N-оксипролил- 683
N-пролил- 687
N-серил- 687, 688
N-тирозил 689
N-треонил- 688
N-триптофил- 688, 689
N-фенилаланил- 320, 321, 686, 688
УФ-спектры поглощения 360—362
фенилаланина 325
УФ-спектры поглощения 362
α-фенилглицина 320
химические методы синтеза 274—276
циклические, синтез 297, 300, 301, 463, 464, 532—534
цистеина, синтез 562—571
цистина
дисульфидный обмен 572—575
несимметричные 561, 562
симметричные 561, 562
синтез 561, 562, 701, 702
эфиры 658—667
продукты поликонденсации 298, 299
синтез 657
Пипеколиновая кислота
гидантоиновое производное 144
молекулярное вращение 136
нахождение в природе 30
оптическое разделение 69
Пиперидин-2-карбоновая кислота, см. Пипеколиновая кислота
L-Пироглутамил-L-глутаминил-L-аланин, нахождение в природе 281
L-Пироглутамил-L-глутаминил-L-глутамин, нахождение в природе 280
Пироглутамилпроизводные, применение в синтезе пептидов 578—583
Пирролидон-α,β-дикарбоновая кислота, молекулярное вращение 244
Пирролидоновое кольцо, селективное расщепление

аминолизом 579—581
действием раствора HCl в этаноле 582
кислотным гидролизом 634
щелочным гидролизом 579—582, 632
Пируволглицин
кажущаяся константа диссоциации 359
получение 358
УФ-спектр поглощения 359, 360
химическое поведение 359, 360
Пируволпептиды
восстановительное метилирование 359
синтез 356, 358, 359
УФ-спектры поглощения 360
Полимеризация; см. Синтез пептидов
Полимиксин В, нахождение в природе 285
Полипептиды, см. Пептиды
Полифосфорная кислота, получение 437, 438
Правило сдвигов парциального вращения 142
Пролин
бетаин, см. Стахидрин
выделение из казеина 110
гидантоиновое производное 144
дисперсия оптического вращения 161—164
конфигурационные соотношения
с гигриновой кислотой 230, 231
с никотином 229, 231
с стахидрином 230
медный комплекс 167
дисперсия оптического вращения 167, 168
молекулярное вращение 167
молекулярное вращение 137
влияние длины волны 130
нахождение в природе D-изомера 24
определение
конфигурации 119—122
оптической чистоты 781
оптическое разделение 72, 78, 90
рацемизация 341
синтез 119—122
стереоспецифическое действие дрожжей 180
удельное вращение при различных длинах волн 161—163
формулы Дрю — Хаворта 229, 231
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187
Протеазы
применение для определения конфигурации 190, 191
специфичность 190, 191
Птероилгепта-L-глутаминовая кислота, нахождение в природе 280
Птероил-L-глутаминовая кислота, нахождение в природе 280
Птероилтри-L-глутаминовая кислота, нахождение в природе 280
Пфейффера — Христлейта правило 168—170
Разделение на антиподы аминокислот 63—98
асимметрическим энзиматическим гидролизом 75, 80—91
асимметрическим энзиматическим окислением или декарбоксилированием 74—78
ассиметрическим энзиматическим синтезом 74, 75, 78—80
биологическими методами 74—91
растительными ацилазами 87—93
селективным метаболизмом у млекопитающих 74, 75
фракционной кристаллизацией 63, 64
хроматографией на бумаге 93, 96, 97
через диастереомерные производные 74
через диастереомерные соли 64—74
α-метиламинокислот 87, 92, 93
определение 63
Роданин, применение в синтезе аминокислот 57

Саркозин, нахождение в природе 23
Серин
ангидрид, синтез 306
вкус L- и D-изомеров 192
выделение из серицина 8
дисперсия оптического вращения 162, 163
защита гидроксильной группы 539—542
как стандартное вещество для отнесения конфигурации 105, 110, 113
конфигурационные соотношения
с глицериновым альдегидом 202, 203
с хлорамфеникол 251, 252
медный комплекс 167
дисперсия оптического вращения 167
молекулярное вращение 167
метиловый эфир, хлоргидрат 306
молекулярное вращение 136
нахождение в природе D-изомера 24
определение
конфигурации 109, 110, 113—115, 128
оптической чистоты 781, 782
превращение в α-амино-β-хлорпропионовую кислоту 113
синтез 114, 115
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187
Сёренсона метод, применение в синтезе аминокислот 58, 59
Синтез пептидов, см. также Пептидная связь, Пептиды
без применения избирательно снимаемых защитных групп
азлактонный метод 330—350
восстановительное аминирование пируволпептидов 359
дикетопиперазиновый метод 302—312
контролируемая конденсация эфиров 301, 302
метод галогенангидридов α-аминокислот 326—328
метод галогенангидридов α-галогенокислот 315—330
метод N-карбоксиангидридов 364—379
полимеризация

азидов пептидов 462—464
аминокислот или их эфиров 286, 288, 291—296
N-карбоксиангидридов 287, 288, 364, 365, 373, 374, 377—379
2-тио-5-тиазолидонов 379
тиофениловых эфиров 532
эфиров пептидов 288, 296—302
тиотиазолидоновый метод 379—385
вопросы оптической чистоты 443—446, 705—715
история развития методов 286—291
методы создания пептидной связи через
азиды 312, 313, 315, 446
активированные эфиры 518—536
ацилимидазолы 550
N-ацил-5-оксазолидоны 515—518
внутримолекулярные ангидриды 575—584
дифенилкетен-N-толилимин 515
карбодиимиды 508—515
применение к остаткам аминокислот, содержащим
ω-аминогруппу 542—546
гидроксильную или фенольную группу 536—542
гуанидиновую группу 553—561
имидазольную группу 547—553
ω-карбоксильную группу 575—589
сульфгидрильную или дисульфидную группу 561—575
смешанные ангидриды
алкилугольных и карбоновых кислот 475—479
карбоновых кислот 468—475
с кислыми эфирами мышьяковистой кислоты 491
с кислыми эфирами фосфористой кислоты 485—490
с кислыми эфирами фосфорной кислоты 499—503
с серной кислотой 491—494
термическая конденсация 489
тиокислоты 535, 536
типы методов и выбор нужного метода 441—443
фосфатамиды 503
фосфитамиды 485—491
фосфоразосоединения 494—499
хлорангидриды 312—315, 464—468
хлорокись фосфора 499—502
эфиры N-карбонил-α-аминокислот 504—508
с применением избирательно снимаемых защитных групп 385—712
блокирование вторичных функциональных групп
ω-аминогрупп 542—547
гидроксильных (ароматических или алифатических) 530, 531, 536, 542
гуанидиновых 553—561
имидазольных 547—553
карбоксильных 575—589
сульфгидрильных или дисульфидных 561—575
защитные группы для аминной функции
бензильная 412, 413, 420
бензилсульфонильная 422—424
бензилтиокарбонильная 417, 420
дибензильная 412, 413
карбоаллилоксигруппа 398, 400
карбобензоксигруппа 391—397
карбо-*n*-бромбензилоксигруппа 398
карбо-*трет*-бутилоксигруппа 399, 400
карбо-(диизопропил)-метоксигруппа 399
карбо-*n*-метоксибензилоксигруппа 399
карбо-α-нафтилметокси группа 398
карбо-*n*-толилоксигруппа 398
карбо-*n*-хлорбензилоксигруппа 399, 401
карбоциклогексилоксигруппа 399, 402
карбоциклопентилоксигруппа 399, 402
метилтиокарбонильная 417, 420
n-(*n'*-метоксифенилазо)-бензилоксикарбонильная 399
n-нитрокарбобензоксигруппа 398—401
o-нитрофеноксиацетильная 420
n-толуолсульфонильная 387—391
требования к защитным группам 387
тритильная 408—411
трифторацетильная 412—416, 418, 419
n-фенилазобензилоксикарбонильная 399
фенилтиокарбонильная 417, 420
формильная 420
фталильная 403—408
защитные группы для карбоксильной функции
бензиловые эфиры 427, 432—441
карбобензоксигидразиды 462—464
метиловые и этиловые эфиры 425—431
требования к защитным группам 424, 425
защитные группы для сульфгидрильной функции
S-бензильная 563, 564
S-бензилтиометильная 571
карбобензоксигруппа 566, 567
n-нитробензильная 563, 564
тетрагидропиранильная 570, 571
тиазолидиновая 567—570
тиолактонная 570
S-тиофенильная 564, 565
тритильная 565, 566
общая схема реакции 385—387
снятие N-ацильных защитных групп 535—712
каталитическим гидрогенолизом 692—699
кислотами 436, 703—708
специальными методами 711, 712
химическим восстановлением 699—703
щелочным гидролизом и гидразинолизом 708—711
снятие групп
O-ацил-539, 540, 546
бензил- 551, 552, 692, 693, 697, 699
O-бензил- 540, 692, 693, 697, 704
S-бензил- 563, 570, 700—702
бензиловые эфиры 625, 632, 633, 692, 693, 696, 699, 707
N-бензилсульфонил- 699, 700

N-бензилтиометил- 571
n-бромкарбобензокси- 692—695
дисульфид (до —SH) 562, 699
изопропилиден- 705, 706
N-карбоаллилокси- 436, 437, 692—701, 703—708
N-карбобензокси- 549, 550, 692—695, 704
O-карбобензокси- 549, 550, 692—695, 704
S-карбобензокси- 566, 567, 700
N-карбо-*трет*-бутилокси- 704, 707
N-карбо-*n*-толилокси- 692—695, 699
N-карбофенилокси- 692—695, 699
N-карбоциклогексилокси- 704
N-карбоциклопентилокси- 704
метиловые эфиры 625, 632—634
N-метилтиокарбонил- 711
нитрогруппа (у нитроаргинина) 519, 693, 697, 698
S-*n*-нитробензил- 563, 564, 697
N-*n*-нитрокарбобензокси- 692—695, 698, 699
N-*o*-нитрофеноксиацетил- 711
пирролидоновый цикл 579—583, 632, 634
O-тетрагидропиранил- 530, 531
S-тетрагидропиранил- 571
тиазолидиновый цикл 567, 568
S-тиофенил- 564, 565
N-тозил- 539, 700
O-тозил- 539, 700
N-тритил 565, 566, 692, 704, 706
S-тритил- 706
N-трифторацетил- 708, 711
N-хлорацетил- 711
N-*n*-хлоркарбобензокси- 692—695, 699, 704
этиловые эфиры 625, 632—634
эфирные группы, гидролитическое отщепление 625, 632—634
Смешанные ангидриды карбоновых кислот, применение в синтезе пептидов 468—475
история метода 468—471
область применения и ограничения 473, 474
принцип 468
рацемизация 473, 474
родственные методы 474, 475
экспериментальные условия 471, 472
Смешанные ангидриды карбоновых и алкилугольных кислот, применение в синтезе пептидов 475—479
область применения и ограничения 478
образование N-ацилпамидов 479
принцип 475, 476
рацемизация 478
родственные методы 479
экспериментальные условия 477
Смешанные ангидриды кислых эфиров фосфористой кислоты, применение в синтезе пептидов 485—491
область применения и ограничения 490, 491
принцип 495
рацемизация 490
родственные методы 491
экспериментальные условия 487
Смешанные ангидриды кислых эфиров фосфорной кислоты, применение в синтезе пептидов 480—485
как биологическая модель 480, 481
принцип 480
условия метода 481, 482
Смешанные ангидриды серной кислоты, применение в синтезе пептидов 491—494
область применения и ограничения 493, 494
принцип 491, 492
рацемизация 494
экспериментальные условия 492
Специфичность
абсолютная, определение 176
антиподная, или стереохимическая, определение 175
биологических агентов 175, 176
относительная, определение 176
субстратная, или структурная, определение 175
Спинацин
нахождение в природе 128
определение конфигурации 128
синтез 128
Стахидрин, нахождение в природе 35
Стереохимические вопросы 11—15
Стрихнин, применение в качестве разделяющего на антиподы агента 66
3-Сульфонилтирозин, оптическое разделение 96
Суринамин, см. также N-метилтирозин; нахождение в природе D-изомера 34
Сфингозин 254—261
конфигурационные соотношения
с α-амино-β,γ-диоксимасляной кислотой 261
с α-амино-β-оксистеариновой кислотой 259
нахождение в природе 254
определение конфигурации 257—261
превращение в α-аминостеариновую кислоту 256
родственные аминокислоты 254—261
конфигурационные соотношения
с α-амино-β,γ-диоксимасляной кислотой 259
с α-амино-β-оксистеариновой кислотой 259

Табтоксинин, см. также α,α′-Диамино-β-оксипимелиновая кислота, нахождение в природе 28
L-Теанин, нахождение в природе 37
S-Тетрагидропиранилцистеин
как промежуточное соединение в синтезе пептидов 570, 571
синтез 570, 571
O-Тетрагидропиранильная группа
как защитная группа для гидроксильной функции 530, 531
применение в синтезе пептидов 530, 531
селективное снятие кислотами 530

S-Тетрагидропиранильная группа
как защитная группа для сульфгидрильной функции 570, 571
селективное снятие
кислотным гидролизом 571
нитратом серебра 571
Тетраэтилпирофосфит, получение 488
β-(Тиазол-2)-β-аланин, нахождение в природе 38
Тиазолид-2,5-дион
полимеризация 384
синтез 384
Тиазолидиновый цикл
как защитная группа для сульфгидрильной функции 567—570
селективное снятие
кислотным гидролизом 567, 568
хлористой ртутью 567—569
Тиазолидины
как промежуточные вещества в синтезе пептидов 567—570
синтез 567—570
β-Тиенилаланин, оптическое разделение 91
Тиоаминокислоты, синтез 535
2-Тио-4-бензилиден-5-тиазолидон, получение 382
2-Тио-4-бензил-5-тиазолидон, получение 382
β-Тиолбутирин, разделение диастереомеров 95
2-Тиогидантоины, применение в синтезе аминокислот 56, 57
2-Тиолгистидин, бетаин, см. Эрготионин
определение конфигурации 125—127
синтез 125
удельное вращение 125
2-Тиол-4-метилгистидин, синтез 126
2-Тио-4-метил-5-тиазолидон, получение 381
2-Тио-5-тиазолидон, получение 380—381
2-Тио-5-тиазолидоны (4-замещенные)
как промежуточные соединения в синтезе пептидов 379—385
в реакциях полимеризации 379, 384
рацемизация 380, 384
синтез 379—383
в ступенчатом синтезе 379, 380, 383—385
температуры плавления 382
устойчивость 379
S-Тиофенил-L-цистеин, получение 565
S-Тиофенильная группа
как защитная группа для сульфгидрильной функции 564, 565
селективное снятие восстановлением 564
Тирозин 116
вкус L- и D-изомеров 192
выделение из казеина 9
гидантоиновое производное
дисперсия оптического вращения 161
медный комплекс 167
дисперсия оптического вращения 167, 168
молекулярное вращение 167
O-метиловый эфир, нахождение в природе 28
обнаружение на бумажной хроматограмме 785
определение оптической чистоты 781
оптическое разделение
превращение
в L-аспарагиновую кислоту 116
в 3,5-дийодтирозин 117
в тироксин 117
в тиронин 117
удельное вращение при различных длинах волн 161
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187
этиловый эфир 116
Тироксин
дегалоидирование 117, 118
нахождение в природе 9
обнаружение на бумажных хроматограммах 785
удельное вращение 117
Тиронин
определение конфигурации 117, 118
синтез 117, 118
удельное вращение 117
Тозиламинокислоты
как промежуточные вещества в синтезе пептидов 390
температуры плавления 388, 389
амидов 631
бензиловых эфиров 451
гидразидов 455
карбобензоксигидразидов 463
карбэтоксиметиловых эфиров 527
метиловых эфиров 451, 452
хлорангидридов 466
цианметиловых эфиров 527
этиловых эфиров 451, 452
синтез 390, 391
удельное вращение 388, 389
амидов 631
гидразидов 455
метиловых эфиров 451, 452
этиловых эфиров 452, 453
Тозиласпарагиновая кислота, ангидрид
синтез 580, 581
температура плавления 584
Тозил-L-валин, получение 390
N-Тозилглицилглицин, получение 518
Тозил-L-α-глутамилглицин, синтез 582, 634
Тозил-γ-глутамилглицин, этиловый эфир, получение 581
Тозил-L-глутамин, получение 581
Тозилглутаминовая кислота
синтез 579
γ-метиловый эфир, синтез 586
Тозилглутаминовая кислота, дихлорангидрид 580
Тозил-L-изоглутамин, получение 579, 580
α-Тозил-ε-карбобензокси-L-лизин, синтез 545, 546
O-Тозил-N-карбобензокси-L-тирозин, получение 537, 538
Тозил-L-лейцин, получение 390
ε-Тозил-L-лизин, синтез 545
N-Тозил-5-оксазолидоны
как промежуточные соединения в синтезе пептидов 517, 518
синтез 517, 518

δ-Тозил-L-орнитин, синтез 545
Тозилпептиды
температура плавления 652—654
амидов 631
бензиловых эфиров 617
гидразидов 463
карбобензоксигидразидов 463
метиловых эфиров 617
этиловых эфиров 617
удельное вращение 652—654
амидов 631
бензиловых эфиров 617
гидразидов 463
метиловых эфиров 617
этиловых эфиров 617
Тозил-L-пироглутамил
-L-аспарагинил-S-бензил-L-цистеин 581
метиловый эфир 581
этиловый эфир 581
-S-бензил-L-цистеин 582
-глицин 581
бензиловый эфир 581
этиловый эфир, синтез, 581
-L-тирозин, этиловый эфир 581
N-Тозилпироглутаминовая кислота
амид, синтез 579
как промежуточное соединение в синтезе пептидов 578, 579
синтез 578
температура плавления 584
Тозил-L-пироглутаминовая кислота, хлорангидрид, синтез 579
N-Тозилпирролид-5-он-2-карбоксамид 578
N-Тозилпирролидонкарбоновая кислота, оптическое разделение 71
O-Тозил-L-тирозин, получение 538, 539
N-Тозильная группа
как защитная группа для аминной функции 388—391
селективное снятие кислотами 704, 708
химическим восстановлением 699—701
O-Тозильная группа, селективное снятие химическим восстановлением 539, 699, 700
Треонин — *алло*-треонин
вкус L- и D-изомеров 192
влияние β-асимметрического центра на чувствительность к энзимам 223—227
выделение 8
дисперсия оптического вращения 162, 163
защита гидроксильной группы 539
корреляция конфигурации 214—217
с винной кислотой 210, 211
с вторичными спиртами 216
с диоксимасляной кислотой 216, 217
с оксикислотами 216
с D-треозой 216
медный комплекс
дисперсия оптического вращения 170
молекулярное вращение 168
парциальные доли молекулярного вращения 170
межатомные расстояния 220
молекулярное вращение 137
определение
конфигурации 122, 189, 214—220
оптической чистоты 780—782
пространственного строения 778, 787
стерического состава 778
оптическая инверсия 780—782
оптическое разделение 63, 73, 81, 82, 91
парциальное молекулярное вращение 140, 142
парциальное удельное вращение 165, 166
превращение в бутирин 122
разделение диастереомеров 95, 97, 98
рентгеноструктурный анализ 219, 220
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
форма молекулы 220
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187, 223—227
Трехокись серы — диметилформамид, комплекс, получение 493
Триарилфосфиты
применение для получения активированных эфиров 523
синтез 522, 523
температуры плавления 523
Триацетилангидро-DL-аргинин
диспропорционирование в воде 559
синтез 539
2,4,5-Трибензамидо-4-пентеноат 119
Триглицилглицин, этиловый эфир, синтез 293
Триглицин, этиловый эфир, хлоргидрат, получение 383, 384
3,5,3′-трийодтиронин, выделение 9
N^{α}, N^{ω}, N^{ω}-Трикарбобензокси-L-аргинил-N^{ω}-карбобензокси-L-аргинин, бензиловый эфир, получение 559—561
N^{α}, N^{ω}, N^{ω}-Трикарбобензокси-L-аргинин
применение в качестве промежуточного соединения в синтезе пептидов 558
синтез 556—560
Тритиламинокислоты
как промежуточные вещества в синтезе пептидов 408
основные свойства 411, 412
синтез 408—411
диэтиламмониевых солей 411
скорости омыления метиловых эфиров 409
температура плавления 410
амидов 631
бензиловых эфиров 452, 453
гидразидов 455
диэтиламмониевых солей 411
метиловых эфиров 452, 453
нафтиловых эфиров 527
цианметиловых эфиров 527
хлорангидридов 466
этиловых эфиров 452, 453
удельное вращение 410
амидов 631
бензиловых эфиров 452, 453
диэтиламмониевых солей 411
метиловых эфиров 452, 453
Тритиласпарагиновая кислота, α-эфиры, синтез 586
Тритилглицилглицин, этиловый эфир, синтез 530

Тритилглицин
синтез 409—411
цианметиловый эфир, синтез 529, 530
этиловый эфир, синтез 409, 412
хлоргидрат, синтез 412
Тритил-L-глутаминовая кислота, α-метиловый эфир, синтез 586
N-Тритил-N′-карбобензокси-L-цистин
бис-бензиловый эфир, синтез 542
бис-метиловый эфир, синтез 572
синтез 572
ε-Тритиллизин, синтез 546
Тритилпептиды
температура плавления 654, 655
амидов 631
бензиловых эфиров 620
гидразидов 460
метиловых эфиров 619—621
нитрофениловых эфиров 528
тиометилфениловых эфиров 528
тиофениловых эфиров 528
цианметиловых эфиров 527
этиловых эфиров 619—621
удельное вращение 654, 655
амидов 631
бензиловых эфиров 620
метиловых эфиров 619—621
этиловых эфиров 619—621
S-Тритил-L-цистеин, синтез 565
N-Тритильная группа
как защитная группа для аминной функции 408—412
селективное снятие
каталитическим гидрогенолизом 692
кислотами 565, 704
S-Тритильная группа
как защитная группа для сульфгидрильной функции 565
селективное снятие кислотами 706
симм-Трифторацетил-DL-аланин, внутримолекулярная перегруппировка 475
Трифторацетиламинокислоты
как промежуточные вещества в синтезе пептидов 412
рацемизация 413, 414
синтез 412—416
температура плавления 418, 419
амидов 631
метиловых эфиров 452, 453
тиофениловых эфиров 527
хлорангидридов 466
цианметиловых эфиров 527
этиловых эфиров 452, 453
удельное вращение 418, 419
амидов 631
хлорангидридов 466
этиловых эфиров 452, 453
устойчивость 412
Трифторацетил-L-аспарагиновая кислота ангидрид как промежуточное соединение в синтезе пептидов 582, 584
температура плавления 584
удельное вращение 584
α-этиловый эфир, синтез 586
Трифторацетил-L-валин, получение 415
N-Трифторацетилглицилглицин, получение 474, 475
Трифторацетилглутаминовая кислота
синтез 414
α-этиловый эфир 586
Трифторацетилглутаминовая — кислота, ангидрид, как промежуточное соединение в синтезе пептидов 582
рацемизация 583
симметричный ангидрид
перегруппировка 475
синтез 474, 475
температура плавления 584
удельное вращение 584
α-Трифторацетил-DL-лизин, синтез 415, 546
ε-Трифторацетил-DL-лизин, синтез 416, 546
α-Трифторацетил-L-орнитин, синтез 546
δ-Трифторацетил-L-орнитин, синтез 546
Трифторацетилпептиды
температура плавления 654
цианметиловых эфиров 527
этиловых эфиров 618—620
удельное вращение 654
этиловых эфиров 618—620
Трифторацетил-L-фенилаланин
анилид, получение 467
хлорангидрид, получение 465
Трифторацетильная группа
как защитная группа для аминной функции 412—416, 418, 419
отщепление щелочным гидролизом 708—710

Удельное вращение, см. также Оптическое вращение; определение 129
Уидецилин
определение
конфигурации 190
оптической чистоты 780, 781
оптическое разделение 91

Фаллоидин, нахождение в природе 284
Фелинин, нахождение в природе 34
Фенацетилглицин, нахождение в природе 281
Фенацетил-L-глутамин, нахождение в природе 281
n-Фенилазобензилоксикарбониламинокислоты
как промежуточные соединения в синтезе пептидов 399
синтез 399
температура плавления 399
n-Фенилазобензилоксикарбонильная группа как защитная группа аминной функции 399
Фенилаланин
ангидрид с дибензилфосфорной кислотой, синтез 482
ангидрид с фосфорной кислотой, синтез 482, 483
анилид, получение 710
бензиловый эфир, хлоргидрат, получение 437, 438
вкус L- и D-изомеров 192

выделение 9
восстановление до гексагидрофенилаланина 116
гидантоиновое производное 144
дисперсия оптического вращения 161—163
медный комплекс 167
дисперсия оптического вращения 167
молекулярное вращение 167
нахождение в природе D-изомера 24
определение конфигурации 116
оптическая инверсия 195, 204, 205
оптическое разделение 72, 75, 78, 81, 82, 87, 90, 180
рацемизация 341
удельное вращение при различных длинах волн 161—163
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187
этиловый эфир 295
γ-Фенилбутирин
метаболическое превращение в ацетильное производное 184, 185
молекулярное вращение 136
определение конфигурации 184
оптическое разделение 72, 184
удельное вращение 184
α-Фенилгидразоны, применение в синтезе аминокислот 51, 52
α-(или C-)-Фенилглицин, см. также α-Аминофенилуксусная кислота
гидантоиновое производное 144
молекулярное вращение 136
определение
конфигурации 123, 124
оптической чистоты 781
оптическая инверсия 195
оптическое разделение 69, 72, 75, 90
превращение в аланин 123
стереоспецифическое действие дрожжей 180
2-Фенил-5-оксазолон, получение 335
Фенилпируволоилглицин
синтез 358
УФ-спектр поглощения 359, 360
чувствительность к энзиматическому гидролизу 358
β-Фенилсерин 249—254
влияние β-асимметрического центра на чувствительность к энзимам 224
дисперсия оптического вращения 162, 163
корреляция конфигурации 249—254
с миндальной кислотой 252—254
с норпсевдоэфедрином 251
с фенилаланином 252
с фенилглицериновой кислотой 249
с хлорамфениколом 249—252
медный комплекс
дисперсия оптического вращения 168
молекулярное вращение 168
парциальное молекулярное вращение 170
молекулярное вращение 137
влияние оптических примесей 132
определение
конфигурации 190, 249, 254
оптической чистоты 780, 781
пространственного строения 778
оптическая инверсия 253
оптическое разделение 72, 90, 253
парциальное молекулярное вращение 140, 142
парциальное удельное вращение при различных длинах волн 165
разделение диастереомеров 95, 97, 252
синтез 249
удельное вращение при различных длинах волн 162, 163
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 224
энзиматическое декарбоксилирование 97
энзиматическое окисление 254
Фенилтиокарбониламинокислоты
как промежуточные вещества в синтезе пептидов 417
синтез 417
температура плавления 420
хлорангидридов 466
эфиров 450
Фенилтиокарбонил-*L*-глутаминовая кислота, ангидрид 584
Фенилтиокарбонилпептиды
метиловые эфиры, температура плавления 615
этиловые эфиры, температура плавления 615
N-Фенилтиокарбонильная группа
как защитная группа для аминной функции 417, 420
селективное снятие окислением 711
α-Фенилэтиламин 124
применение в качестве разделяющего на антиподы агента 66
оптическое разделение 67
Фенхиламин
применение в качестве разделяющего на антиподы агента 68
оптическое разделение 67
Фишера проекции 14, 15, 107, 108
Формиламинокислоты
как промежуточные вещества в синтезе пептидов 420
синтез 421
температура плавления 422
гидразидов 455
удельное вращение 422
Формилглицин, получение 421
α-Формил-ε-карбобензокси-L-лизин, синтез 546
3-Формил-4-карбокси-2,2-диметилтиазолидин
-глицин, синтез 705
-глицин, метиловый эфир, синтез 567
синтез 567
α-Формиллизин, синтез 546
Формилпептиды
температура плавления 651
бензиловых эфиров 614, 615
метиловых эфиров 614, 615
этиловых эфиров 614, 615
удельное вращение 651
метиловых эфиров 615

этиловых эфиров 614, 615
N-Формильная группа
как защитная группа для аминной функции 420—422
селективное снятие кислотами 704, 705
Фосфатамиды, применение в синтезе пептидов 503
Фосфинамиды, применение в синтезе пептидов 485—491
область применения и ограничения 490, 491
принцип 485, 486
рацемизация 490
родственные методы 491
экспериментальные условия 487—490
N-Фосфоаминокислоты
нахождение в природе 720
синтез 721—724
метиловых эфиров 722
этиловых эфиров 722
температура плавления
метиловых эфиров 722
этиловых эфиров 722
устойчивость
к кислотам 721
эфиров к омылению 722
O-Фосфоаминокислоты
нахождение в природе 718
синтез 718—720
температура плавления 723
удельное вращение 723
L-Фосфоаргинин, нахождение в природе 36
N-Фосфоглицилглицин, синтез 724
N-Фосфоглицил-L-тирозин, синтез 724
N-Фосфоглицин, синтез 724
O-Фосфооксипролин, синтез 719
N-Фосфопептиды, синтез 722—724
O-Фосфопептиды
синтез 719, 720
температура плавления 723
удельное вращение 723
Фосфоразоаминокислоты, эфиры
как промежуточные вещества в синтезе пептидов 494—499
рацемизация 498
синтез 494—497
строение 494—497
устойчивость и свойства 495, 496
Фосфоразо-метод синтеза пептидов 494—499
история 494, 495
область применения и ограничения 497, 498
принцип 494
рацемизация 498
родственные методы 498, 499
экспериментальные условия 497
O-Фосфо-L-серин
нахождение в природе 718
синтез 719
N-Фосфо-L-тирозин, синтез 724
O-Фосфо-L-тирозин, синтез 718, 719
O-Фосфо-L-треонин
нахождение в природе 718
синтез 719
Фталиламинокислоты
карбобензоксигидразиды, синтез 462, 463
как промежуточные вещества в синтезе пептидов 403
рацемизация 403, 406
синтез 403—408
температура плавления 404, 405
амидов 630
бензиловых эфиров 450, 451
винилметиловых эфиров 527
гидразидов 455
карбобензоксигидразидов 463
метиловых эфиров 450, 451
нитрофениловых эфиров 527
фениловых эфиров 527
хлорангидридов 466
этиловых эфиров 451
удельное вращение 404, 405
бензиловых эфиров 450, 451
метиловых эфиров 450, 451
этиловых эфиров 451
Фталиласпарагиновая кислота, ангидрид
как промежуточное вещество в синтезе пептидов 577, 578
температура плавления 584
удельное вращение 584
N-Фталил-L-аспарагиновая кислота, получение 407
Фталил-L-аспарагин, синтез 524
N-Фталил-O-ацетил-L-серин 539, 540
Фталилглицилглицин, синтез
Фталилглицил-L-лейцин, этиловый эфир, получение
Фталилглицин, синтез и свойства
бензоата 469
дибензилфосфата 481
симметричного ангидрида 481, 486
Фталилглицин, синтез и свойства
бензоата 469
дибензилфосфата 481
симметричного ангидрида 481
Фталил-α-L-глутамилглицин, диметиловый эфир, получение 587
Фталил-L-глутамин, получение 578
Фталилглутаминовая кислота
ангидрид
как промежуточное соединение в синтезе пептидов 577, 578
синтез 578
температура плавления 584
удельное вращение 584
γ-метиловый эфир, синтез 586, 587
синтез 406—408
Фталилпептиды
температура плавления 651, 652
амидов 630, 631
бензиловых эфиров 615—617
метиловых эфиров 615—617
этиловых эфиров 615, 616
удельное вращение 651, 652
амидов 630, 631
бензиловых эфиров 615—617
метиловых эфиров 615—617
этиловых эфиров 615, 616
Фталил-L-треонил-L-фенилаланин, метиловый эфир 513

синтез 634
Фталил-L-треонин, получение 406, 407
Фталил-L-фенилаланил-L-лейцин, этиловый эфир, получение 513, 514
Фталил-L-фенилаланин, получение 403, 406
N-Фталил-L-цистеин
амид, синтез 570
этиловый эфир, синтез 570
N-Фталил-L-цистеинил-L-метионин, этиловый эфир, синтез 570
N-Фталильная группа
как защитная группа для аминной функции 403—408, 710
селективное снятие гидразинолизом 708—711
L-α-Фталимидо-β-пропиотиолактон
как промежуточное соединение в синтезе пептидов 570
синтез 570
3-Фтортирозин
определение конфигурации 191
оптическое разделение 81
м-о- и *п*-Фторфенилаланины
определение конфигурации 191
оптическое разделение 81
Фумарил-L-аланин, нахождение в природе 282
N-Фумариламинокислоты, аминолиз 323

Химическое восстановление натрием в жидком аммиаке 699—703
как метод отщепления защитных групп 699—703
область применения и ограничения 701—703
принцип 699, 700
экспериментальные условия 700, 701
Хинидин, применение в качестве разделяющего на антиподы реагента 66
Хинин, применение в качестве разделяющего на антиподы реагента 66
Хлорангидридный метод синтеза пептидов 312—315, 464—468
область применения и ограничения 467, 468
принцип 464
рацемизация 467
экспериментальные условия 464, 465
Хлорацетиламинокислоты
как промежуточные соединения в синтезе пептидов 327—330, 420
синтез 328—330
температура плавления 88—91, 318, 329
удельное вращение 329
Хлорацетилдегидроаланин, получение 356
α-Хлорацетилдегидроаминокислоты, синтез 356—358
N-Хлорацетил-α-метилсерин
температура плавления 92
чувствительность к гидролизу ацилазой I 92, 93
α-Хлорацетилпептиды, температура плавления 318
N-Хлорацетильная группа
как защитная группа для аминной функции 420
селективное отщепление внутримолекулярным аминолизом 711
Хлоркамфорсульфокислота, применение в качестве расщепляющего на антиподы агента 66
п-Хлоркарбобензоксиаминокислоты
как промежуточные соединения в синтезе пептидов 399
температура плавления 401
п-Хлоркарбобензоксигруппа
как защитная группа для аминной функции 399, 401
селективное снятие
каталитическим гидрогенолизом 692—695, 700
химическим восстановлением 704
Хлорокись фосфора, применение в синтезе пептидов 499—503
область применения и ограничения 502
принцип 499
рацемизация 502
родственные методы 503
экспериментальные условия 501, 502
4-Хлорпролин, синтез 119
L-α-Хлорпропионил-L-аминокислоты, чувствительность к гидролитическому действию ацилазы I 213, 214

Циануксусный эфир, применение в синтезе аминокислот 53, 54
β-Циклогексилаланин, см. также α-Амино-β-циклогексилпропионовая кислота
молекулярное вращение 136
оптическое разделение 88
γ-Циклогексилбутирин, оптическое разделение 88
α-(или С-)-Циклогексилглицин, см. также α-Аминоциклогексилуксусная кислота
молекулярное вращение 136
оптическое разделение 88
Циклогексилизотиоцианат, получение 512
1-Циклогексил-3-(2-морфолинил-(4)-этил)-карбодиимид 511, 512
-мето-*п*-толуолсульфонат 511, 512
1-Циклогексил-3-(2-морфолинил-(4)-этил)-тиомочевина 512
Циклосерин, нахождение в природе 285
Цикло-L-цистинил, синтез 702, 703
Цинхонидин, применение в качестве разделяющего на антиподы агента 66
Цинхонин, применение в качестве разделяющего на антиподы агента 66
Циркулярный дихроизм 166
Цистатионин — аллоцистатионин
нахождение в природе 34
разделение диастереомеров 94
Цистеин
защита сульфгидрильной группы 562—571
молекулярное вращение 136
окисление
в процессе гидролиза белков 17
до цистина 17
оптическое разделение, см. Цистин
Цистеинсульфиновая кислота, нахождение в природе 33

L-Цистеинилглицин, моногидрат, получение 706
L-Цистеинил-L-цистеин
получение 702
окисление 702
Цистеиновая кислота, нахождение в природе 33
Цистин
выделение 9
дисперсия оптического вращения 159, 160, 162—164
молекулярное вращение гидантоинового производного 144
определение
конфигурации 113—115
оптической чистоты 781
оптическое разделение 70, 76, 88, 177
разделение рацемической и мезо-форм 94
рацемизация 340
синтез 113
удельное вращение
влияние концентрации 131
влияние температуры 130
при различных длинах волн 160, 162, 163
чувствительность к действию оксидаз L- и D-аминокислот 187
Цистеинилцистин
синтез 702
структурные изомеры 702
Цитруллин
молекулярное вращение 136
нахождение в природе 11, 36

Шмидта реакция, применение для синтеза аминокислот 55
Штрекера реакция, применение в синтезе аминокислот 48, 49

Щелочной гидролиз защитных групп 708, 709

Эйзенин, нахождение в природе 281
Электрофильное замещение 200
L-Эпинефрин, конфигурация 97
Эргоалкалоиды, нахождение в природе 282
Эргозин, нахождение в природе 282
Эргокорнин, нахождение в природе 282
Эргокриптин, нахождение в природе 282
Эргокристин, нахождение в природе 282
Эрготамин, нахождение в природе 282
Эрготионин
определение конфигурации 126, 127
синтез 126, 127
удельное вращение 125
установление строения 125, 126
Этамицин, нахождение в природе 284
Этилдихлорфосфит, получение 489
Этиловые эфиры
как защитная группа для карбоксильной функции 425—431
селективное удаление
кислотным гидролизом 633, 634
щелочным гидролизом 625, 632—634
β-Этиловый эфир аспарагиновой кислоты, медный комплекс
дисперсия оптического вращения 167
молекулярное вращение 167
γ-Этиловый эфир L-глутаминовой кислоты, получение 427
Этиловый эфир трифторуксусной кислоты, синтез 416
Этионин
дисперсия оптического вращения 162, 163
молекулярное вращение 136
определение конфигурации 190
оптическое разделение 89
1-Этоксивиниловый эфир фталилглицина
как промежуточное соединение в синтезе пептидов 531
синтез 531

Яблочная кислота
корреляция конфигурации с аспарагиновой кислотой 199, 200
молекулярное вращение производных 199

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие 5

Глава 1. **Номенклатура, строение и нахождение аминокислот в природе** 7
1. Строение и классификация аминокислот белкового происхождения 7
2. Оптические свойства 11
3. Правила номенклатуры 15
4. Критерии нахождения аминокислот в природе 20
Критерии действительного существования аминокислоты в природе (предложения) 25
Литература 39

Глава 2. **Синтез α-аминокислот** 47
1. Введение 47
2. Синтез Штрекера 48
3. Аминирование α-галогенкислот 50
4. Восстановительное аминирование 51
5. Аминирование путем молекулярной перегруппировки 52
6. Конденсация альдегидов с соединениями, содержащими активную метиленовую группу 55
7. Окисление аминоспиртов 58
8. Конденсация с эфирами N-замещенной аминомалоновой кислоты 58
Литература 61

Глава 3. **Оптическое разделение аминокислот** 63
1. Определение 63
2. Методы кристаллизации 63
3. Диастереоизомерные соли 64
4. Диастереоизомерные производные 74
5. Биологические методы 74
6. Растительные ацилазы 87
7. Оптическое разделение α-метиламинокислот 87
8. Методы с применением хроматографии на бумаге 93
9. Разделение стерических изомеров 97
Литература 98

Глава 4. **Стереохимия аминокислот (корреляция конфигураций)** 105
1. Стандарты отнесений 105
2. Корреляция конфигураций α-аминокислот 106
3. Графическое изображение относительных конфигураций 107
4. Корреляция конфигураций серина и глицеринового альдегида 109
5. Абсолютные конфигурации 110
Методы, применяемые для корреляции конфигураций аминокислот 112
Химические взаимопревращения аминокислот 112
6. Общее обсуждение 112

7. Стереохимические отношения некоторых аминокислот, входящих в состав белков 113
8. Корреляции конфигураций некоторых аминокислот небелкового происхождения 122
Оптические методы 129
9. Общие соображения 129
10. Оптическая суперпозиция 132
11. Изменения вращения, связанные с ионизацией 134
12. Сдвиги вращения, вызванные замещением 143
13. Дисперсия оптического вращения 152
14. Дисперсия комплексных солей меди 166
15. Теории оптической активности 170
Биологические методы 175
16. Общие соображения 175
17. Усвоение и расщепление микроорганизмами 176
18. Метаболизм высшими животными 183
19. Асимметрическое окисление 185
20. Асимметрический гидролиз 189
21. Асимметрический синтез 190
22. Другие биологические методы 191
Корреляции конфигураций между α-аминокислотами и другими классами соединений 193
Общие соображения 193
23. Вальденовское обращение 193
24. Влияние структурных изменений на конфигурацию 196
Используемые методы 199
25. Правило сдвига 199
26. Кинетические методы 200
27. Химические превращения 2-аминосахаров 206
28. Корреляции с помощью квазирацемических соединений 209
29. Энзиматические методы 213
Стереохимическая конфигурация диасимметрических аминокислот 214
30. Треонин — химические корреляции 214
31. Изолейцин 220
32. Оксипролин 228
33. γ-Оксиглутаминовая кислота 235
34. 5-Оксипипеколиновая кислота 238
35. Октопин 238
36. Ампнотрикарбаллиловая кислота 241
37. β-Оксиглутаминовая кислота 246
38. β-Оксинорлейцин 247
39. β-Оксиаспарагиновая кислота 248
40. β-Фенилсерин 249
41. α-Аминокислоты, сходные со сфингозином 254
Литература 262

Глава 5. **Химические методы синтеза пептидов** 274
Введение 274
1. Номенклатура и строение 274
2. Примеры природных пептидов 286
3. Исторический обзор 286
Классические методы синтеза пептидов 291
4. Конденсация α-аминокислот или их эфиров 291

5. Дикетопиперазиновый метод . . . 302
6. Синтез пептидов с помощью хлорангидридов и азидов ацилами-нокислот . . . 312
7. Метод, основанный на использовании галогенангидридов α-галоген-кислот, и родственные методы . . . 315
8. Азлактонный метод синтеза насыщенных и ненасыщенных пептидов 330
9. Свойства дегидропептидов и их получение путем конденсации амидов или нитрилов с α-кетокислотами . . . 350
10. Метод с использованием N-карбоксиангидридов α-аминокислот 364
11. Тиотиазолидоновый метод . . . 379
Методы синтеза пептидов с использованием избирательно снимаемых защитных групп. . . . 385
12. Общие положения . . . 385
Защита аминогруппы . . . 387
13. *п*-Толуолсульфонильная группа . . . 390
14. Карбобензокси- и родственные ей группы . . . 391
15. Фталильная группа . . . 403
16. Тритильная группа . . . 408
17. Трифторацетильная группа . . . 412
18. Фенилтиокарбонильная и родственные группы . . . 417
19. *о*-Нитрофеноксиацетильная и хлорацетильная группы . . . 420
20. Формильная группа . . . 420
21. Бензолсульфонильная группа . . . 422
Защита карбоксильной группы . . . 424
22. Метиловые и этиловые эфиры аминокислот . . . 425
23. Бензиловые эфиры аминокислот . . . 427
Методы конденсации ациламинокислот с аминокислотами, пептидами или их эфирами . . . 441
24. Характеристика методов образования пептидной связи . . . 441
25. Вопросы оптической чистоты . . . 443
26. Азидный метод . . . 446
27. Хлорангидридный метод . . . 464
28. Метод смешанных ангидридов карбоновых кислот . . . 468
29. Метод смешанных ангидридов карбоновых и алкилугольных кислот 475
30. Ангидриды фосфорной кислоты и амино- или ациламинокислот 480
31. Методы синтеза пептидов с использованием в качестве промежуточных соединений замещенных сложных эфиров фосфористой кислоты . . . 485
32. Метод смешанных ангидридов серной кислоты . . . 491
33. Фосфоразо-метод . . . 494
34. Метод с использованием хлорокиси фосфора . . . 499
35. Метод с использованием эфиров N-карбонил-α-аминокислот . . . 504
36. Карбодиимидный метод . . . 508
37. Метод N-ацил-5-оксазолидонов . . . 515
38. Метод активированных эфиров . . . 518
39. Методы, применимые к аминокислотам с дополнительной функциональной группой . . . 536
40. Физические константы эфиров ацилированных пептидов . . . 589
41. Получение и физические константы амидов ациламинокислот и ацилпептидов . . . 623
42. Получение и физические константы ацилированных пептидов (свободных кислот) . . . 625
Снятие N-ацильных защитных групп . . . 635

43. Получение и физические константы пептидов, эфиров пептидов, амидов пептидов и амидов аминокислот . . . 635
44. Каталитический гидрогенолиз . . . 692
45. Химическое восстановление . . . 699
46. Гидролитическое и негидролитическое кислотное расщепление 703
47. Щелочной гидролиз и гидразинолиз . . . 708
48. Специальные методы расщепления . . . 711
49. Подход к определению оптической чистоты пептидов . . . 712
Получение некоторых производных аминокислот . . . 715
50. Глутамин и аспарагин . . . 715
51. О- и N-фосфоаминокислоты и пептиды . . . 718
52. Бензоиламинокислоты . . . 724
Литература . . . 726
Дополнения к главе 5 . . . 753
Защита аминогруппы . . . 753
Защита карбоксильной группы . . . 757
1. *трет*-Бутиловые эфиры . . . 758
2. *п*-Нитробензиловые эфиры . . . 760
Методы образования пептидной связи . . . 764
Литература . . . 772

Глава 6. Определение оптической и стерической чистоты аминокислот . . . 776
1. Общие соображения . . . 776
2. Применение оксидаз и декарбоксилаз . . . 779
3. Методики анализа и идентификации . . . 783
Обнаружение иодсодержащих соединений с помощью бумажных хроматограмм . . . 786
4. Краткие выводы . . . 787
Литература . . . 789
Предметный указатель . . . 791

Джуа М. **История химии**, перевод с итальянского, 30 изд. л.

Последняя монография по истории химии вышла в нашей стране свыше 25 лет назад. Автор настоящего издания — крупный итальянский химик, написавший несколько специальных монографий, в том числе трехтомную химическую энциклопедию. В книге компактно и стройно, с привлечением множества интереснейших фактов и примеров, изложен огромный материал по истории возникновения и развития химии как науки. Изложение истории химии в ее главнейших направлениях автор доводит до середины нашего века. Книга дополнена ценными материалами в виде примечаний и богато иллюстрирована.

Предназначена для самых широких кругов читателей и в первую очередь для преподавателей химии в школах, а также в средних и высших учебных заведениях.

Хоффман К. **Химия для всех**, перевод с английского, 30 изд. л.

В книге в простой и наглядной форме изложены элементарные основы самых разнообразных направлений современной химии — от строения вещества до вопросов биохимии. Хотя книга в основном предназначена не для химиков, но и химики, особенно преподаватели химии в школах, найдут в ней много интересных и полезных сведений. Книга принесет большую пользу врачам и биологам, так как познакомит их с основами химии на современном научном уровне и с их приложением к биологическим вопросам. Доступность изложения позволяет рекомендовать книгу и для школьников старших классов.

ДЖ. ГРИНШТЕЙН И М. ВИНИЦ

Химия аминокислот и пептидов

Редактор В. В. АРНОЛЬДОВ
Художник И. А. Литвишко
Технический редактор В. П. Сизова

Сдано в производство 20/X—64 г.
Подписано к печати 20/IV—65 г.
Бумага 70×108¹/₁₆=25,8 бум. л.
72,1 усл. печ. л. Уч.-изд. л. 70,07
Изд. № 3/2253. Цена 5 р. 11 к.
Заказ № 576

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»
Москва, 1-й Рижский пер., 2

Московская типография № 16
Главполиграфпрома
Государственного комитета Совета
Министров СССР по печати
Москва, Трехпрудный пер., 9

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»

**выпускает в 1965 г.
следующие книги по химии**

Беккер Г. Введение в электронную теорию органических реакций, перевод с немецкого, 35 изд. л.

Книга является ценным пособием для углубленного изучения теоретических аспектов органической химии, предназначенным для лиц, знакомых с фактическим материалом органической химии по вступительным курсам.

Огромное достоинство книги состоит в том, что все утверждения автора подкрепляются тщательно подобранным и умело сгруппированным фактическим материалом. Ясность изложения, четкость и логичность классификации, обилие графического и табличного материала, подкрепляющего теоретические выводы,— все это ставит книгу Беккера в ряд лучших современных учебных пособий по теории органической химии. Она окажет большую помощь студентам старших курсов химических вузов, а также аспирантам и научным работникам, специализирующимся в органической химии.

Коулсон Ч. Валентность, перевод с английского, 30 изд. л.

Книга посвящена теории строения вещества; она написана крупнейшим специалистом по квантовой химии. Книга отличается четким и ясным изложением материала, не перегружена математическим аппаратом, но вместе с тем написана на высоком научном уровне и отнюдь не упрощает электронной теории строения молекул.

Излагаются основы квантовой механики и теории электронной оболочки атома. Рассматривается электронное строение двухатомных и многоатомных молекул; большое внимание уделено вопросу о гибридизации атомных орбит.

Специальные главы посвящены сопряженным системам, связям в металлических и неметаллических твердых телах, водородной связи и некоторым другим видам химических связей.

Книга представляет большой интерес для физикохимиков, органиков, физиков.